



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107625769 A

(43)申请公布日 2018.01.26

(21)申请号 201710832758.5

(22)申请日 2011.06.16

(30)优先权数据

61/355,482 2010.06.16 US

(62)分案原申请数据

201180029913.0 2011.06.16

(71)申请人 安比拉神经疗法公司

地址 美国路易斯安那州

申请人 路易斯安那州立大学农业与机械学
院董事会

(72)发明人 尼古拉斯·E·哥德尔斯

芭芭拉·S·福克斯 格伦·盖林

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

代理人 刘慧 杨青

(51)Int.Cl.

A61K 31/444(2006.01)

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/5513(2006.01)

A61P 25/30(2006.01)

A61P 25/22(2006.01)

A61P 3/04(2006.01)

A61P 25/24(2006.01)

A61P 25/18(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

A61P 25/16(2006.01)

A61P 25/14(2006.01)

权利要求书1页 说明书29页

(54)发明名称

用于治疗成瘾、精神障碍和神经变性疾病的
组合物和方法

(57)摘要

本发明涉及用于治疗成瘾、精神障碍和神经变性疾病的组合物和方法。本发明的特点尤其在于包含甲吡醇作为唯一药物活性剂的可药用组合物,包含甲吡醇和至少一种其他药物活性剂的组合物,其中靶向HPA轴的药剂本身是新的或改性的(例如被设计用于跨越血脑屏障的双特异性抗体,或通过例如与跨越血脑屏障的物质结合而重新设计的已知化合物)组合物,以及其中靶向HPA轴的药剂被新配制成不能显著抑制肾上腺中皮质醇的产生的组合物。例如,可以将所述组合物配制成包含太低而不降低血浆皮质醇水平的剂量或配制成优先影响皮肤。

1. 用于治疗患有与HPA轴中的活性有关的障碍的患者的药物组合物,所述组合物包含甲吡醇或其药学可接受的盐,其中所述组合物还包含第二药物活性剂,其中所述组合物被配制用于向患者经口或局部给药,以及其中甲吡醇和第二药物活性剂在所述组合物内都以单独给药时不足以治疗所述障碍的量存在。

2. 权利要求1所述的药物组合物,其中所述第二药物活性剂是苯二氮䓬类。

3. 权利要求1或2所述的药物组合物,其中所述组合物存在于单位剂型中。

4. 权利要求1所述的药物组合物,其中所述第二药物活性剂是苯二氮䓬类,并且其中所述苯二氮䓬类是奥沙西洋或氯氮䓬。

5. 权利要求1-4任一项所述的药物组合物,还包含赋形剂,所述赋形剂包含下列一种或多种:聚乙二醇,甘油和明胶。

6. 权利要求1所述的药物组合物,其中所述第二药物活性剂靶向前额皮质。

7. 权利要求6所述的药物组合物,其中所述第二药物活性剂是苯二氮䓬类。

8. 权利要求7所述的药物组合物,其中所述苯二氮䓬类是奥沙西洋或氯氮䓬。

9. 权利要求6、7或8所述的药物组合物,还包含赋形剂,所述赋形剂包含下列一种或多种:聚乙二醇,甘油和明胶。

10. 治疗有效量的权利要求1-9中任一项的组合物在制备用于治疗患有与HPA轴中的活性有关的障碍的患者的药物中的应用,包括:(a) 鉴定需要治疗的患者;和(b) 向患者给药所述组合物。

11. 权利要求10所述的应用,其中所述障碍是成瘾、焦虑症、肥胖症、抑郁症或精神分裂症。

12. 治疗有效量的权利要求1或6的组合物在制备用于治疗患有神经变性疾病的患者的药物中的应用,包括:(a) 鉴定需要治疗的患者;和(b) 向患者给药所述组合物。

13. 权利要求12所述的应用,其中所述神经变性疾病是阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病或肌萎缩性侧索硬化。

用于治疗成瘾、精神障碍和神经变性疾病的组合物和方法

[0001] 本申请为国际申请PCT/US2011/040647于2012年12月17日进入中国国家阶段、申请号为201180029913.0、发明名称为“用于治疗成瘾、精神障碍和神经变性疾病的组合物和方法”的分案申请。

[0002] 与相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2010年6月16日提交的美国临时申请号61/355,482的提交日期利益。在允许引入参考材料的任何管辖范围内,在此将美国临时申请号61/355,482的全部内容引为参考。

[0004] 政府权利陈述

[0005] 本发明是在国家药物滥用研究所(National Institute on Drug Abuse)授予的美国公共卫生服务部(United States Public Health Service)资助号DA06013下利用政府支持做出的。政府在本发明中具有一定权利。

技术领域

[0006] 本发明涉及用于治疗成瘾、可能与或可能不与成瘾相关的其他障碍包括精神科病症(例如焦虑症和创伤后应激障碍)和神经变性疾病的组合物和方法。更具体来说,本发明包括含有一种或多种活性药剂的药物组合物,其在成瘾的情形中对行为有正面影响并且降低复发风险。在某些实施方案中,药物组合物被配制使得它们在给药于患者后不显著抑制血浆皮质醇水平,并且活性药剂可以被特异性构造以跨越血脑屏障。

背景技术

[0007] 我们以前进行的研究表明,某些类型的治疗剂可以组合使用,以治疗对物质例如药物或活动例如赌博的成瘾。根据那些以前的研究,我们描述了为患者提供益处(例如降低复发可能性)的组合药物疗法,并且我们假设那些药物疗法将减弱HPA轴内的活动(例如通过减弱HPA轴内活动的暗示诱发的增加)(参见美国申请公开号2009/0203669)。在以前描述的组合物中,有些组合物包含至少一种靶向下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的活性成分(“第一”活性药剂)和至少一种靶向前额皮质的活性成分(“第二”活性药剂)。例如,组合物可以包括降低CRH、ACTH和/或皮质醇的表达或活性的第一活性药剂,以及降低前额皮质中的活动的第二活性药剂(例如通过抑制神经递质GABA减弱暗示诱发的活动)。尽管我们正在进行的工作支持我们以前描述的疗法,但我们现在进行的研究表明,使用不显著降低血浆皮质醇水平的药物组合物可以获得积极结果。我们进一步设想了包含甲吡醇(metyrapol)的药物组合物,所述甲吡醇可以单独或其其他活性药剂组合使用;我们进一步设想了在产生皮质醇的肾上腺之外的组织中(例如脑中)选择性抑制有害活性的药物活性剂;并且我们确定了其他病症(例如神经变性疾病)不仅可以使本文描述的组合物治疗,而且可以使用以前在美国申请出版号2009/0203669中描述的药物组合物治疗。因此,本发明的特点尤其在包含甲吡醇作为唯一药物活性剂的可药用组合物;包含甲吡醇和至少一种其他药物活性剂的组合物;其中靶向HPA轴的药剂本身是新的或改性的(例如被设计用于跨过血脑屏障的双

特异性抗体或通过例如结合到跨过血脑屏障的物质而重新设计的已知化合物)的组合物;以及其中靶向HPA轴的药剂被新配制成不显著抑制肾上腺中皮质醇生产的组合物。例如,可以将所述组合物配制成包含太低而不降低血浆皮质醇水平的剂量或配制成优先影响皮肤。例如,人们可以将靶向HPA轴的药剂配制在用于向皮肤施用的局部剂型中(例如凝胶、霜剂、软膏或油膏或适合于通过透皮途径释放的剂型中)。除了皮肤和脑,本发明的组合物可以被配制成靶向肠或胸腺。我们使用术语“结合的”来广泛指称任何物理附着;例如通过共价键或离子键联合在一起的两种药剂是结合的。

发明内容

[0008] 因此,本发明的特点在于包含甲吡醇的药物组合物,所述甲吡醇作为唯一活性药剂或作为活性药剂组合中的一种(例如两种或三种活性药剂中的一种)。尽管剂型将在下面进一步讨论,但我们在这里指出,这样的组合物可以被配制用于经口、局部、静脉内或皮下给药于患者,并且一种或多种活性药剂可以结合到基于肽的药剂(例如抗体),以便于其跨过血脑屏障运输。在药物组合物包含甲吡醇和第二药物活性剂的情况下,第二药剂可以是增加GABA(γ -氨基丁酸)的表达或活性的药剂,是GABA模拟物,或者抑制GABA在患者中的代谢。在任何配置中,甲吡醇可以以不足以降低患者中血浆皮质醇水平的量存在于单位剂型中。(在下面进一步讨论的其他实施方案中,第一药剂例如甲吡醇可以以足以降低患者中血浆皮质醇水平的量存在于单位剂型中。)

[0009] 作为本发明的方面,上面刚刚讨论的含有甲吡醇的组合物和本文中描述的其他组合物可以制备成单位剂型。在这种形式中,组合物被细分成含有适合量(例如药物有效剂量)活性组分的单位药剂。单位剂型本质上可以是制药工业中已知的任何离散单位,例如胶囊、片剂、扁囊剂、菱形剂、凝胶帽、贴剂(例如透皮贴剂)、被制备成例如从气溶胶吸入器排出的粉剂等。在实践中,单位剂型可以包装在一起,并且可以以代表疗程的数目被包含。

[0010] 靶向HPA轴的药剂、包括甲吡醇,可以结合到便于药剂跨过血脑屏障移动的药剂或部分。可选地或此外,药物组合物可以包含外流抑制剂,其在活性药剂(例如甲吡醇)到达脑后帮助维持脑中活性药剂的水平。尽管赋形剂在后文中进一步描述,但我们在这里指出,任何本发明的药物组合物可以包含下列一种或多种:聚乙二醇,甘油和明胶。

[0011] 本发明的特点还在于包含靶向下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴但是不显著降低血浆皮质醇的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的药物组合物。皮质醇水平可以通过本技术领域公知的技术容易地测量,并被发现是波动的(例如在24小时的时间过程中)。因此,正如本技术领域的普通专业人员认识到的,皮质醇水平(例如在治疗与未治疗患者中相比)应该在一天中的相同时间或在其他归一化条件下进行比较。在本发明的组合物的情形中,显著降低血浆皮质醇的药剂是指在至少或接近70%(即在至少或接近75%、80%、85%、90%或95%)的被治疗群体中,血浆皮质醇水平下降到低于 $5\mu\text{g}/\text{dL}$ (例如在早晨(例如早8点左右)获得的血样中低于5.0、4.5、4.0、3.5、3.0、2.5或 $2.0\mu\text{g}/\text{dL}$)。

[0012] 抑制HPA轴的药剂可以是抑制促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)或促肾上腺皮质激素(ACTH)的表达或活性的药剂。尽管这样的药剂在后文中进一步详细描述,但我们在这里指出,“第一”药剂可以是甲吡酮(美替拉酮®)、其活性代谢物(例如甲吡醇)或酮康唑(Nizoral®)。同样地,靶向前额皮质的药剂在后文中进一步详细描述,并包括苯二氮䓬类

例如奥沙西洋和氯氮䓬。

[0013] 在上述组合物中,活性药剂可以配制在单位剂型中,并且靶向HPA轴的药剂的有效量可以是不足以降低患者中血浆皮质醇水平的量。在本发明的组合物中,第一药剂和/或第二药剂可以结合于便于跨过血脑屏障移动的部分。可选地或此外,组合物可以包括维持第一药剂和/或第二药剂在脑中的水平的外流抑制剂。有用的赋形剂包括聚乙二醇、甘油和明胶。

[0014] 治疗方法包括患有与HPA轴中的异常活性有关的障碍的患者的治疗方法,并且所述方法可以包括向患者给药治疗有效量的本文描述的组合物。本发明包括所述组合物在药物制备中的用途,以及在制备用于治疗与HPA轴中的异常活性相关的障碍、包括本文中描述的具体障碍的药物中的用途。本发明的任何方法可以包括鉴定需要治疗的患者的步骤,并且所述患者可以是人类患者。

[0015] 适合于治疗的障碍包括成瘾、焦虑症、肥胖症(在某些情况下作为对食物成瘾的结果)、抑郁症、经前烦躁综合征、精神分裂症和神经变性疾病。神经变性疾病可以是阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病或肌萎缩性侧索硬化。

[0016] 本发明的组合物不限于通过任何特定细胞或分子机制起作用的组合物。然而,对于成瘾来说,我们选择的药剂和药剂组合的目标在于阻断环境暗示以产生HPA轴和交感神经系统的有条件激活的能力,这种有条件的激活使节制的上瘾者回想起他或她的药物选择,引起渴望和复发。因此,组合物包括降低条件刺激以增加HPA轴和交感神经系统活性的能力,但不降低或显著降低基础活性的组合物。我们的肾上腺切除术数据表明,在GABA有活性的前额皮质中,与奥沙西洋相组合的甲吡酮介导的效应非常可能至少高于肾上腺的水平。

[0017] 除非上下文另有指明,否则我们使用“药剂”广泛指称以临床有益方式(例如在患者暴露于一种或多种有条件环境暗示后抑制HPA或应激轴激活)作用于靶分子(例如靶例如酶、配体或配体所结合的受体)或身体的靶区域(例如脑、皮肤或内分泌系统的腺体或器官)的任何物质。例如,我们可以将化学化合物例如甲吡酮(美替拉酮®)和奥沙西洋称为“药剂”。我们也可以使用术语“化合物”指称常规化学化合物(例如小的有机或无机分子)。“药剂”也可以是蛋白质或基于蛋白质的分子(例如突变的配体或抗体)或核酸或基于核酸的实体(例如反义寡核苷酸、介导RNAi的RNA分子和可用于它们的递送的载体)。例如,我们可以将特异性结合并改变(例如抑制)CRH活性的抗体(例如人类或人源化抗CRH抗体)或与编码CRH的RNA特异性相互作用并抑制其翻译的核酸(例如siRNA或shRNA),称为抑制CRH的“药剂”。CRH仅仅是可以被靶向的分子之一;ACTH、皮质醇(在某些实施方案中)和GABA也可以被本文中参考CHR讨论的药剂类型所靶向。可用于本发明方法的药剂包括皮质醇受体的拮抗剂(初步结果表明在成瘾的动物模型中皮质酮升高),并且正如提到的,治疗成瘾和本文描述的其他病症的方法,可以通过给药包含甲吡酮、甲吡醇或靶向HPA轴而不抑制血浆皮质醇水平的另一种药剂的药物组合物来进行。

[0018] 正如提到的,靶向HPA轴的药剂(例如双药剂或多药剂药物组合物中的第一药剂)可以以不显著降低血浆皮质醇水平的剂量递送(并且可以开出这样的组合物的处方的情形在下文中进一步讨论)。本技术领域的普通专业人员可以容易地确定这样的剂量,因为血样中皮质醇水平可以被容易地测量。到目前为止,我们的证据表明经口给药包含0.5-50.0mg/

kg第一药剂(例如甲吡酮或甲吡醇)的组合物将获得这样的结果。在本技术领域中,众所周知循环剂量随着给药途径和其他考虑因素而变,并且其他剂量可能是适合和有效的。正如提到的,第一药剂也可以以促进跨过血脑屏障的方式给药,并且促进化合物向脑的递送的方法和药剂在本技术领域中是已知的,并在后文中进一步讨论。

[0019] 当药剂“靶向”组织(例如神经系统、皮肤或内分泌系统中的组织)时,它以为患者提供益处的方式影响该区域内的细胞活性或生物过程。例如,当患者对物质或活动成瘾时,益处可以是患者与该物质或活动的接触的减少。例如,患者可以与在未进行治疗的情况下所预期的相比以较低的频率或较低的程度、或与治疗之前相比以较低的程度使用所述物质或进行所述活动。因此,益处可以以即使在有条件环境暗示存在下复发风险降低为特征。临床益处可以是主观性的,其中患者可能报告他们对物质或活动的渴望的降低。尽管治疗将在后文中进一步描述,但我们在这里指出本发明的化合物和方法可用于促进戒绝或使戒绝时间不长于在不进行治疗时所预期的。因此,成瘾行为例如药物使用将以较低频率发生。对于适合于治疗的其他病症来说,益处可以是与病症相关的一种或多种征兆或症状的改善。例如,当治疗阿尔茨海默病时,益处可以是改善的认知功能,正如通过改善的记忆或与其他人交谈的能力所显示的。当治疗帕金森病、亨廷顿舞蹈病或ALS时,益处可以是改善的运动技巧或改善的言语能力(或降低患者运动技巧和/或言语能力的损坏速率)。

[0020] 可以包含在本发明组合物中的至少某些药剂、包括皮质醇合成抑制剂和苯二氮䓬类,具有潜在的副作用。例如,皮质醇合成抑制剂可能产生肾上腺功能不全,苯二氮䓬类有依赖和滥用的可能性,使得它们在成瘾的治疗中有问题(Chouinard, J. Clin. Psychiatry 65 Suppl. 5:7-12, 2004; Lilja等, Subst. Use Misuse 36(9-10):1213-1231, 2001; O'Brien, J. Clin. Psychiatry 66 Suppl. 2:28-33, 2005)。在本发明的情形中,为了解决这些顾虑,我们在至少某些实施方案中提供了下述组合物,所述组合物含有降低的剂量水平和/或通过以与常规给药所引发的机制不同的机制起作用或作用于不同靶(例如肾上腺皮质之外的组织)来影响HPA轴(或应激轴)的药剂组合。因此,在某些实施方案中,本发明的组合物和方法以在单独给药时具有很小或没有效果的剂量递送药剂。这使潜在的毒性和不想要的副作用降至最低,并同时维持疗效。我们在可卡因依赖的大鼠模型中已经证明,以单独投送时无效的剂量给药的甲吡酮与奥沙西洋的组合,在大鼠中引起可卡因自给药的剂量相关性降低(Goeders和Guerin, Pharmacol. Biochem. Behav. 91(1):181-189, 2008)。在相同时段内,这些相同的组合不影响食物维持的应答。与以前的组合物不同,本文描述的用于治疗成瘾的组合物包括具有第一药剂(例如甲吡酮、甲吡醇或靶向HPA轴的另一种药剂)的组合物,所述药剂被配制使得皮质醇的循环血浆水平不被显著降低。

[0021] 在下面的描述中提出了本发明的一个或多个实施方案的详细情况。从详细描述和权利要求书可以明显看出本发明的其他特点、目标和优点。

[0022] 详细描述

[0023] 本发明包括各种不同组合物和方法,所述组合物包含用于治疗成瘾和本文描述的其他障碍例如焦虑症、抑郁症、经前烦躁障碍和神经变性疾病的一种或多种药物活性剂。我们首先进一步详细描述本发明的组合物中的活性药剂。

[0024] 一般来说,本发明的组合物中包含的药剂,可以是目前可用但目前没有如本文中所述配制的药剂,和/或目前未处方用于治疗本文所述病症的药剂。例如,在本技术领域中

已知并常用于诊断肾上腺机能障碍的甲吡酮,可以掺入到本发明的组合物中,并以本文中描述的治疗方式给药。可选地,可以根据本文中的教授和本技术领域容易获得的信息,来新产生一种或多种药剂。例如,给定被发现的靶(例如交感神经系统中的CRH、ACTH或 β -肾上腺素能受体)的序列,可以产生反义寡核苷酸或介导RNAi的RNA分子。对于本技术领域的普通专业人员来说,这些靶的序列是已知或容易获得的,制造反义寡核苷酸和介导RNAi的RNA分子的方法也是如此。其他有用药剂,不论是以前可用的还是新制造的,包括与本文中鉴定的配体(例如CRH或ACTH)或对有条件环境暗示做出响应而激活的受体(例如CRH、ACTH、皮质醇或GABA的受体)选择性结合的抗体。当靶例如皮质醇受体集中于细胞质时,药剂可以是胞内抗体。我们以与抗体治疗领域中常用意义的相同的意义使用术语“选择性结合”,表示抗体药剂对其靶表现出特异性,结合靶的亲合性高于其结合非靶的亲合性,并引发对患者的有益结果。例如,适合于包含在本发明组合物中的抗体,将以高于(优选情况下远远高于)它结合CRH之外的其他肽激素的亲合性来结合CRH。

[0025] 药剂可以以各种不同方式分类,并且本发明的包含至少两种活性药剂的组合物可以包含相同或不同类型的两种或更多种药剂。例如,药剂可以分为化学化合物(例如甲吡酮和托吡酯);蛋白质或基于蛋白质的分子,例如突变的配体(例如结合但不激活或完全激活其同源受体的配体)或抗体;或核酸或基于核酸的实体,例如反义寡核苷酸或介导RNAi的RNA分子。因此,本发明的组合物可以包含两种或更多种不同的化学化合物;两种或更多种不同的蛋白质或基于蛋白质的分子;或两种或更多种不同的核酸或基于核酸的实体。可选地,组合物可以包含两种不同类型的药剂。用于治疗患者的方法同样可以包括两种或更多种不同的化学化合物、两种或更多种不同的蛋白质或基于蛋白质的分子、两种或更多种不同的核酸或基于核酸的实体,或这些不同类型的药剂的任何组合(例如蛋白质与核酸)的给药。

[0026] 在第一方面,本发明的特点在于甲吡醇是其中唯一活性药剂的组合物(为了便于阅读,当存在单一活性药剂时,我们可以简称为“单一活性药剂”或“活性药剂”,并且当组合物包含多种一种的活性药剂时,我们可以简称为“多种活性药剂”)。甲吡醇是甲吡酮的代谢物,并且可以从甲吡酮合成。根据文献中用于这种类型的化学转化的程序,我们预计一种需要用硼氢化钠还原甲吡酮的酮官能团的合成反应,产生甲吡醇的消旋混合物。在某些实施方案中,组合物包含甲吡醇作为唯一活性药剂,并且组合物被配制使得被给药所述组合物的患者中血浆皮质醇水平降低。在其他实施方案中,组合物包含甲吡醇作为唯一活性药剂,并且组合物被配制在给药后不降低血浆皮质醇水平。当血浆皮质醇水平被维持时,甲吡醇可以以太低而不影响循环水平的剂量被包含,或以使甲吡醇选择性影响肾上腺之外的组织(例如脑)的方式配制或施用。剂量和剂型在后文中进一步详细讨论。我们在这里指出,经口和局部剂型可以特别容易地制造和使用。此外,本文描述的任何活性药剂、包括甲吡醇,可以与促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分相结合。尽管不太方便,但这些结合物和其他基于蛋白质的治疗剂例如下面讨论的双特异性抗体,也可以被配制用于静脉内或腹膜内给药。

[0027] 在第二方面,本发明的特点在于甲吡醇在其中与一种或多种其他活性药剂组合的组合物。例如,甲吡醇可以被包含作为两种或更多种活性药剂之一(例如甲吡醇可以作为三种活性药剂之一被包含或给药)。其他药剂(例如“第二”药剂)可以靶向前额皮质或交感神

神经系统。当存在于三种活性药剂时,第一种可以是甲吡醇,第二种可以靶向前额皮质,第三种可以靶向交感神经系统。因此,本发明的组合物可以包含甲吡醇和靶向前额皮质的药剂,甲吡醇和靶向交感神经系统的药剂,或甲吡醇、靶向前额皮质的药剂和靶向交感神经系统的药剂。这些药剂在后文中进一步讨论。包含甲吡醇和一种或多种其他活性药剂的组合物可以被配制成使得它们降低或不能降低血浆皮质醇水平,并且可用于获得这些结果的剂量和剂型在后文中进一步描述。无论在治疗过程中是否降低血浆皮质醇水平,甲吡醇和/或靶向前额皮质的药剂可以与促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分相结合。

[0028] 为更加明确起见,通过第一和第二方面,本发明包括下列组合物,其中:甲吡醇是组合物中的唯一活性药剂,所述组合物被配制成使得血浆皮质醇水平降低;甲吡醇是组合物中的唯一活性药剂,所述组合物被配制成使得血浆皮质醇水平不显著降低;甲吡醇是组合物中的两种或更多种活性药剂之一,所述组合物被配制成使得血浆皮质醇水平降低;以及甲吡醇甲吡醇是组合物中的两种或更多种活性药剂之一,所述组合物被配制成使得血浆皮质醇水平不显著降低。

[0029] 在第三方面,本发明的特点在于包含靶向HPA轴的药剂作为唯一活性药剂的组合物(例如药物组合物),并且这些组合物可以被配制成使得在被给药所述组合物的患者中血浆皮质醇水平不降低。无论血浆皮质醇水平是否降低,靶向HPA轴的药剂可以与促进其跨血脑屏障运输或增加其对肾上腺之外的其他组织(例如皮肤、肠和胸腺)的可利用性的蛋白质或其他部分相结合。更具体来说,这些组合物中的唯一活性药剂可以是抑制CRH或ACTH的药剂。抑制CRH的药剂包括抑制CRH表达的药剂(例如核酸),抑制CRH从激素原或前激素原形成的药剂,通过参与负反馈回路抑制CRH产生或分泌的药剂(例如皮质醇),特异性结合并抑制CRH的抗体,CRH受体拮抗剂(例如与CRH受体(如CRH-1、CRH-2a、CRH-2b或CHR-2g)结合并抑制信号传导,或在细胞内起作用以抑制通常对CRH受体结合做出响应而产生的第二信使的蛋白质,包括突变的CRH、抗体和胞内抗体),抑制CRH或CRH受体的表达、分泌或活性的化合物(例如小分子)(例如抑制CRH结合垂体中的同源受体的能力的化合物(例如pexacerfont(由Bristol-Myers Squibb开发为BMS-562,086)和antialarmin)),以及促进CRH代谢的药剂。本发明涵盖了与促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分相结合的这些药剂,含有它们的药物组合物,以及包含未与活性药剂结合(即未结合于活性药剂)、但是作为组合物的一部分便于活性药剂通过血脑屏障或在脑中停留的药剂的药物组合物。

[0030] 抑制ACTH的药剂包括抑制ACTH表达的药剂(例如核酸),通过参与负反馈回路抑制ACTH产生或分泌的药剂(例如皮质醇),特异性结合并抑制ACTH的抗体,ACTH受体拮抗剂(例如与ACTH受体结合并抑制信号传导,或在细胞内起作用以抑制通常对ACTH受体结合做出响应而产生的第二信使的蛋白质),抑制ACTH或ACTH受体的表达、分泌或活性的化合物(例如抑制ACTH结合肾上腺中的同源受体的能力的化合物),以及促进ACTH代谢的药剂。由于现有的负反馈回路,人们可以给药ACTH本身,给药足以触发反馈抑制或下调ACTH受体的量引起ACTH的抑制。这些药剂可以以不引起血浆皮质醇显著降低的剂量、给药途径或配制方式递送。

[0031] 更具体来说,抑制CRH的药剂包括[Met18,Lys23,Glu27、29、40,Ala32、41,Leu33、36、38]CRF9-41,其被缩写为 α 螺旋CRF(9-41)并具有序列Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Met-Leu-Glu-Met-Ala-Lys-Ala-Glu-Gln-Glu-Ala-Glu-Gln-Ala-Ala-Leu-Asn-

Arg-Leu-Leu-Leu-Glu-Glu-Ala (SEQ ID NO:1), 及其生物活性片段或变体 (Rivier等, Science 224:889, 1984) (例如CRF (8-41))。抑制CRH的另一种药剂是[D-Phe₁₂, Nle₂₁, 38, (αMeLeu₃₇)]CRF (12-41), 其被缩写为D-Phe CRF₁₂₋₄₁, 及其生物活性片段或变体。抑制CRH的其他药剂包括astressin或astressin-B、CP-154, 526、NB127914、antalarmin、CRA1000、CRA1001和antisauvagine-30。

[0032] 靶向HPA轴的药剂还包括化合物甲吡酮和甲吡醇(甲吡酮的代谢物)、酮康唑、氨鲁米特、物质P拮抗剂和加压素抑制剂。甲吡酮通过抑制肾上腺类固醇合成中的11β-羟化步骤, 抑制皮质醇和皮质甾酮合成(分别在人类和大鼠中) (Sonino, 在Agarwal主编的《激素拮抗剂》(Hormone antagonists) 中, Walter de Gruyter, Berlin, pp 421-429, 1982; Haleem等, Brain Res. 458, 339-347, 1988; Haynes, 在Gilman等主编的《治疗学的药理基础》(The Pharmacological Basis of Therapeutics), 第八版中, Pergamon Press, New York, pp. 1431-1462, 1990)。我们在大鼠中调查了皮质甾酮合成抑制剂甲吡酮和酮康唑对可卡因自给药的影响。用甲吡酮进行了预处理可以引起血浆皮质甾酮和正在进行的可卡因自给药两者的显著的剂量相关性降低(也参见Goeders等, Brain Res. 722:145-152, 1996)。

[0033] 酮康唑是具有广谱活性的口服抗真菌剂, 用于真菌疾病的治疗 (Sonino, 在Agarwal主编的《激素拮抗剂》(Hormone antagonists) 中, Walter de Gruyter, Berlin, pp 421-429, 1982; Thienpont等, Experientia 35:606-607, 1979)。这种药物也抑制肾上腺类固醇合成中的11β-羟化和18-羟化步骤 (Engelhardt等, Klin. Wochenschr. 63:607-612, 1985), 并且还可以起到糖皮质激素受体拮抗剂的作用 (Loose等, J. Clin. Invest. 72:404-408, 1983)。此外, 临床试验表明, 酮康唑(以及甲吡酮) 在对标准抗抑郁疗法有抗性的皮质醇增多性抑郁症的治疗中有效 (Ghadirian等, Biol. Psychiatry 37:369-375, 1995; Murphy等, J. Clin. Psychopharmacol. 11:121-126, 1991; Wolkowitz等, Am. J. Psychiatry 150:810-812, 1993)。

[0034] 可能通过抑制11-β-羟化酶靶向HPA轴的药剂, 包括在Zolle等 (J. Med. Chem. 51:7652, 2008) 中描述的依托咪酯及其类似物, 以及如Givner等 (Nature 203:317, 1964) 中所述的AY-9944。这些药剂可用于本文描述的本发明的组合物和方法中。

[0035] 正如提到的, 本发明包括基于核酸和蛋白质的治疗剂, 它们利用自身的性质, 通过与其他物质结合或通过配制方式, 获得对靶组织例如产生CRH的下丘脑和产生ACTH的垂体的优先进入。这些治疗剂可用作靶向HPA轴的药剂, 并且它们在后文中进一步讨论。

[0036] 为更加明确起见, 通过第三方面, 本发明包括其中唯一活性药剂是抑制HPA轴中的信号传导分子(CRH、ACTH或皮质醇) 的表达或活性或被这样的信号传导分子结合的受体的表达或活性的药剂的组合物。由于这些药剂中的一些目前是已知的并在本技术领域中使用, 我们希望强调的是所述已知药剂(例如甲吡酮和酮康唑) 按照本发明进行不同配制; 它们以太低而不降低血浆皮质醇水平的剂量和/或以优先将它们递送至肾上腺之外的适合靶组织的方式配制(例如, 将它们配制成局部制剂, 或结合于促进它们跨过血脑屏障运输的蛋白质或部分, 使它们的递送偏向于脑而不是肾上腺)。

[0037] 在第四方面, 本发明的特征在于包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的组合物(例如药物组合物)。此外, 组合物可以被配制成使它们不显著降低血浆皮质醇水平。无论血浆皮质醇水平是否受到影响, 第一和第二药剂中的任一种或两者可以与

促进跨过血脑屏障运输的蛋白质或部分相结合。靶向HPA轴的第一药剂可以是本文中描述的任一种(例如甲吡醇,上面在本发明的第三方面的情形中描述的任何药剂,或后文更详细描述核酸或抗体)。

[0038] 第二活性药剂可以通过下列方式靶向前额皮质:增加 γ -氨基丁酸(GABA)的表达或活性;模拟GABA;或抑制GABA代谢。GABA是在受体结合后使被抑制的神经元超极化的抑制性神经递质。这种结合直接或间接打开了氯离子和钾通道。活化的促离子型受体本身是离子通道,而促代谢型受体是通过居间的G蛋白激活离子通道的G蛋白结合受体。任一种类型的受体可以由模拟GABA的药剂激活并因此靶向前额皮质。广泛处方用于管控焦虑症的苯二氮䓬类(例如奥沙西洋)是一类可用于调节GABA受体的药物。据信苯二氮䓬类结合GABA受体,通过当GABA结合到其在受体上的自身位点时增加氯离子通道开放的频率使GABA受体更加有效。在突触后神经元中获得的细胞内氯离子的增加使神经元超极化,使其兴奋性降低。巴比妥酸盐通过结合GABA受体上的另一个位点产生类似效应,并可用作靶向前额皮质的药物。

[0039] 其他药剂可以通过增加GABA合成来起作用。例如,编码合成性酶类L-谷氨酸脱羧酶或其生物活性片段或其他突变体的核酸,可以被给药于可能从本文描述的方法获益的患者(例如被证实或被诊断为患有成瘾的患者(适合于治疗的其他患者在下文进一步描述))。直接或间接刺激前额皮质中的GABA的药剂可以通过直接或间接增加GABA的合成、释放或活性而做到这一点。可以通过例如增强GABA与同源受体之间的相互作用来增强活性。有各种不同方式可增强这种相互作用,包括增加GABA浓度、阻断其重摄取、提供受体激动剂或改变受体结合和信号传导的动力学。GABA浓度反过来可以通过增加GABA合成或抑制GABA代谢来增加。GABA浓度实际上也可以通过给药模拟GABA的药剂来增加。对于间接刺激来说,优先增加前额皮质中多巴胺能或去甲肾上腺素能活性的任何药剂(例如抗抑郁剂)介意间接影响(即刺激)前额皮质中的GABA。米氮平是可用于间接刺激GABA的抗抑郁剂的实例;托莫西汀是可以类似使用的另一类药剂的实例。加巴喷丁(eurontinTM)是模拟GABA效应的药剂的实例,并且直接刺激剂包括任何苯二氮䓬类(例如奥沙西洋((Serax®)或氯氮䓬)、地西洋(Valium®)或阿普唑仑(Xanax®))。其他有用药剂例如蝇蕈醇和巴氯芬可以分别通过GABA_A或GABA_B受体刺激GABA。其他GABA激动剂、类似物或模拟物包括普罗加比、普瑞巴林、利鲁唑、氨己烯酸、丙戊酸(DepakoteTM)、噻加宾(GabitrilTM)、拉莫三嗪(LamictalTM)、苯妥因(DilantinTM)、卡马西平(TegretolTM)和托吡酯(TopamaxTM)。其他GABA激动剂和可用于靶向前额皮质的化合物包括巴比妥酸盐、卡利普多、水合氯醛、格鲁米特、L-茶氨酸、卡瓦、安眠酮、神经活性甾醇、z-药物、异丙酚、美黄芩、缬草、 γ -丁内酯、 γ -羟基丁酸、phenibut、德伦环烷、贯叶金丝桃素、gabaculine、苯乙肼、丙戊酸盐、氨己烯酸、柠檬香蜂草(香蜂草(Melissa officinalis))。人们也可以掺入GABA本身、L-谷氨酰胺、匹卡米隆或破伤风痉挛毒素。

[0040] 苯二氮䓬类受体表达可以使用本技术领域已知的方法来评估。例如,可以将受体用[³H]PK11195标记(参见Javaid等,Biol.Psychiatry 36:44-50,1994;也参见Chesley等,J.Clin.Psychiatry 51:404-406,1990)。下面描述的数据进一步表明苯二氮䓬类在大鼠中介导可卡因强化的某些方面。

[0041] 在第五方面,本发明的特点在于包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向交感神经系统

的第二药剂的组合物(例如药物组合物)。此外,组合物可以被配制使得它们不显著降低血浆皮质醇水平。无论血浆皮质醇水平是否受到影响,第一和/或第二药剂可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。靶向HPA轴的第一药剂可以是本文中描述的任何药剂(例如甲吡醇、在上面本发明的第三方面的情形中描述的任何药剂或在后面更详细描述的任何核酸或抗体)。

[0042] 抑制交感神经系统的药剂包括本技术领域被称为“ β -阻断剂”的药剂。例如,抑制交感神经系统中的活性的药剂可以是索他洛尔(Betapace®)、噻吗洛尔(Blocadren®)、卡替洛尔(Cartrol®)、卡维地洛(Coreg®)、纳多洛尔(Corgard®)、纳多洛尔/苄氟噻嗪(Corzide®)、普萘洛尔(Inderal®)、普萘洛尔/HCTZ(Inderide®)、倍他洛尔(Kerlone®)、喷布洛尔(Levatol®)、美托洛尔(Lopressor®)、拉贝洛尔(Normodyne®)、醋丁洛尔(Sectral®)、阿替洛尔/HCTZ(Tenoretic®)、阿替洛尔(Tenormin®)、噻吗洛尔/HCTZ(Timolide®)、美托洛尔(Toprol®)、拉贝洛尔(Trandate®)、吲哚洛尔(Visken®)、比索洛尔(Zebeta®)、比索洛尔/HCTZ(Ziac®)、艾司洛尔(Brevibloc®)或其组合。

[0043] 在第六方面,本发明的特点在于包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂以及靶向交感神经系统的第三药剂的组合物(例如药物组合物)。此外,组合物被配制使得它们不显著降低血浆皮质醇水平。无论是否影响血浆皮质醇水平,第一和/或第二药剂可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。第一、第二和第三药剂分别可以是本文中所述用于靶向HPA轴、前额皮质和交感神经系统的任何药剂。例如,第一药剂可以是甲吡醇、在上面本发明的第三方面的情形中描述的任何药剂或在后面更详细描述的任何核酸或抗体。

[0044] 一般来说,掺入到本发明药物组合物中的化合物可以作为消旋混合物(即每种异构体份数粗略相等)掺入,或纯化并以D-型或L-型被包含。此外,化学化合物可以被改性以变得更亲脂(或更疏水),并且这样的改性可以允许化合物更容易穿过血脑屏障。可以将化合物结合到脂氨基酸或甘油三酯,以允许通过用于这些化合物的相应转运蛋白递送到脑内。化合物(例如甲吡酮、甲吡醇、酮康唑和奥沙西洋)也可以结合到配体,所述配体结合介导物质运输到脑内的受体。例如,活性药剂可以结合到结合转铁蛋白受体或胰岛素样生长因子受体的配体。可选地,化合物可以结合到选择性结合这样的受体的抗体。此外,这些受体结合蛋白或抗体可以附着于脂质体表面,所述脂质体含有用于跨过血脑屏障递送的化合物。此外,细胞穿透肽例如来自于HIV-1的TAT肽,也可以用作载体以增强已与其结合的化合物的摄取。

[0045] 正如提到的,可用于本发明组合物的药物活性剂可以是核酸。这些核酸可以通过直接或间接抑制CRH、ACTH或皮质醇或被这些配体之一结合的受体(例如NR3C1)的表达,起到靶向HPA轴的第一药剂的作用。为了直接抑制CRH、ACTH、皮质醇或其受体的表达,核酸可以是反义寡核苷酸或介导RNAi的RNA,其由于序列特异性互补而特异性结合于编码配体或受体的基因或mRNA。为了间接抑制CRH、ACTH或皮质醇或被这些配体之一结合的受体的表达,核酸可以是反义寡核苷酸或介导RNAi的RNA,其由于序列特异性互补而特异性结合于产生配体的合成途径中的酶或前体或由配体结合所激活的下游效应子的编码基因或mRNA。同样地,核酸可以通过增加GABA而起到靶向前额皮质的第二药剂的作用。例如,核酸可以提高

L-谷氨酸脱羧酶的量,该酶催化从谷氨酸产生GABA的反应。

[0046] 典型地使用具有具有约9-10个或更多核苷酸(例如12-14、15-17、18-20、21-23或24-27个核苷酸;siRNA一般具有21个核苷酸)的核酸来抑制靶的表达,并且这些长度的核酸可以包含在本发明的组合物中。无论长度如何,核酸可以是双链或单链的,并且可以包括或构成转录所需的正义链或编码链,或旨在抑制靶(例如CRH或ACTH)的表达的反义链或非编码链。核酸可以使用标准核苷酸或可以改变与互补序列的碱基配对或提供对核酸酶的增加的抗性的核苷酸类似物或衍生物(例如次黄苷、硫代磷酸酯或吡啶取代的核苷酸)来合成。如果需要,可以通过修饰碱基部分、糖部分或磷酸酯骨架来修改给定核酸的稳定性或溶解性(例如如Toulme (Nature Biotech. 19:17, 2001) 或Faria等 (Nature Biotech. 19:40-44, 2001) 所教授)。可以对核酸的脱氧核糖磷酸酯骨架进行修饰,以产生肽核酸(PNA; 参见Hyrup等, Bioorganic & Medicinal Chemistry 4:5-23, 1996), 其是分子的天然骨架被假肽骨架代替,只保留4种核苷酸碱基的核酸“模拟物”。这允许在低离子强度条件下与DNA和RNA特异性杂交。PNA可以使用如Hyrup等(同上)和Perry-O'Keefe等 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:14670-675) 所述的标准固相肽合成流程来合成。

[0047] 为了抑制表达,核酸可以特异性结合在靶核酸的编码区内或结合到非编码区(例如5'或3'非翻译区)。例如,有用的反义寡核苷酸可以与靶mRNA的翻译起始位点周围的区域(例如目标靶基因的-10至+10区之间)或多腺苷化信号中或周围的区域互补。也可以通过靶向调控区(例如启动子和/或增强子)以形成阻止靶基因转录的三螺旋结构来抑制基因表达(总的来说参见Helene, Anticancer Drug Des. 6:569-84, 1991; Helene, Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36, 1992; 以及Maher, Bioassays 14:807-15, 1992)。核酸也可以是所谓的“曲折(switchback)”核酸,其以交替的5'-3'、3'-5'方式合成,使得它们首先与双链体的一条链然后与另一条链碱基配对,消除了对双链体一条链上相当大的嘌呤或嘧啶区段的需要。

[0048] 在其他实施方案中,反义核酸可以是端基差向异构核酸,其与互补RNA形成特异性双链杂合体,其中与常见的b-单元相反,链彼此平行地伸展(Gaultier等, Nucleic Acids Res. 15:6625-6641, 1987; 也参见Tanaka等, Nucl. Acids Res. 22:3069-3074, 1994)。可选地,反义核酸可以包含2'-O-甲基核糖核苷酸(Inoue等, Nucleic Acids Res. 15:6131-6148, 1987) 或嵌合RNA-DNA类似物(Inoue等, FEES Lett. 215:327-330, 1987)。

[0049] 当核酸不再伴有在体内与它们天然相伴的一些或所有侧翼核酸序列时,我们可以将这些核酸称为“被分离的”,当核酸与在体内与它们相伴的一些量的细胞材料分开时,我们可以将它们成为“被纯化的”。例如,可用作本文中描述的治疗剂的核酸序列可以为至少50%纯(例如组合物的至少或约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%可以是核酸)。核酸当然可以被合成(而不是分离或纯化),并且产生核酸构建物以及将它们递送至靶细胞的方法在本技术领域是公知的。例如,在给药于患者之前可以将核酸合并到载体(例如自主复制的质粒或病毒)中,并且这样的载体在本发明的范围之内。本发明还涵盖了包含正义或反义方向的本发明核酸的遗传构建物(例如质粒、粘粒和运输核酸的其他载体)。核酸可以与促进所述核酸表达的调控序列(例如启动子、增强子或其他表达控制序列例如多腺苷化信号)可操作连接。载体可以自主复制或整合到宿主基因组中,并且可以是病毒载体,例如复制缺陷型反转录病毒、腺病毒或腺相关病毒(例如在美国专利号7,955,595

中描述的腺相关病毒)。

[0050] 此外,在存在时,调控序列可以指导核酸的组成性或组织特异性表达(例如在皮肤或脑中的表达)。适合的神经元特异性启动子包括但不限于神经元特异性烯醇化酶(NSE)(Olivia等,Genomics 10:157-165,1991;GenBank登记号:X51956)和人神经丝轻链启动子(NEFL)(Rogaev等,Hum.Mol.Genet.1:781,1992;GenBank登记号:L04147)。神经胶质特异性启动子包括但不限于神经胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)启动子(Morii等,Biochem.Biophys Res.Commun.175:185-191,1991;GenBank登记号:M65210)、S100启动子(Morii等,Biochem.Biophys Res.Commun.175:185-191,1991;GenBank登记号:M65210)和谷氨酰胺合成酶启动子(Van den等,Biochem.Biophys.Acta.2:249-251,1991;GenBank登记号:X59834)。为了在下丘脑中表达,核酸构建物可以包含CRH启动子,为了在垂体前叶中表达,核酸构建物可以包含ACTH启动子。可以使用相应启动子的任何部分,只要所述部分足以指导组织特异性表达即可。

[0051] 代替产生在特定组织中表达的核酸,可以对核酸、包括反义核酸进行修饰,以靶向HPA轴、前额皮质和/或交感神经系统中所选的细胞。例如,可以将反义核酸连接到特异性结合与靶细胞类型相关的细胞表面受体或其他组分的抗体或其他蛋白(例如受体配体)。同样地,核酸可以包括促进它们跨过细胞膜(参见例如Letsinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:6553-6556,1989;Lemaitre等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:648-652,1987;以及W0 88/09810)或血脑屏障(参见例如W0 89/10134)运输的药剂。此外,可以将核酸用嵌入剂修饰(Zon,Pharm.Res.5:539-549,1988)。也可以使用本文描述的载体将反义核酸递送至细胞。为了获得足够的反义核酸细胞内浓度,人们可以将它们在具有强启动子(例如强的pol II或pol III启动子)的载体中表达。

[0052] 如本文中所述,抗体也可以作为药物活性剂掺入到本发明的组合物中,并且本发明包括编码那些抗体的核酸。这些核酸以至少两种方式使用;它们可用于表达系统中以生产抗体(从所述表达系统收获抗体并进行制备,用于在本文描述的一种或多种组合物中给药),或者它们可以配制并直接给药到患者,随后将在所述患者中生产抗体。

[0053] 我们使用术语“抗体”来广泛指称由选择性结合目标靶(例如CRH、ACTH、CRH受体、ACTH受体或GABA受体)的免疫球蛋白基因编码的蛋白,及其靶结合片段和其他变体(例如单链抗体、人源化抗体或Fab片段)。因此,本发明的组合物可以包含免疫球蛋白G类(IgG)的四聚体抗体,并且也可以使用IgM、IgD、IgA和IgE抗体。靶或抗原结合片段可以是:(i) Fab片段(即由VL、VH、CL和CH1结构域构成的单价片段);(ii) F(ab')₂片段(即含有在铰链区通过二硫键相连的两个Fab片段的二价片段);(iii) 由VH和CH1结构域构成的Fd片段;(iv) 由抗体的单个臂的VL和VH结构域构成的Fv片段;(v) 由VH结构域构成的dAb片段(Ward等,Nature 341:544-546,1989);或(vi) 分离的CDR。尽管抗体的精确结构可以改变,但抗体必须特异性结合本文描述的靶,并且以为给药有所述抗体的患者提供临床益处的方式改变靶,不论是通过增强还是抑制靶与本发明相关的活性。例如,抗体可以特异性结合CRH或ACTH并抑制它们的活性/功能。

[0054] 抗体可以是多克隆或单克隆抗体,可以是嵌合、人源化、CDR嫁接的或人类抗体,并且跨过血脑屏障的双特异性抗体在靶向脑时可能特别有用。总的来说,产生抗体的方法在本技术领域是公知的。例如,人类单克隆抗体可以在携带人类免疫球蛋白基因而不是小

鼠基因的转基因小鼠中产生。可以使用来自于这些小鼠的脾细胞(在使用目标抗原免疫接种后)来生产杂交瘤,所述杂交瘤分泌对来自于人类蛋白的表位具有特异性亲和性的人类 mAb(参见WO 91/00906;WO 91/10741;WO 92/03918;WO 92/03917;Lonberg等,Nature 368:856-859,1994;Green等,Nature Genet. 7:13-21,1994;Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855,1994;Bruggeman等,Immunol. 7:33-40,1993;Tuailon等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:3720-3724,1993;以及Bruggeman等,Eur.J.Immunol 21:1323-1326,1991)。也参见欧洲专利申请号125,023,184,187,171,496和173,494;也参见WO 86/01533;美国专利号4,816,567;Better等,Science 240:1041-1043,1988;Liu等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:3439-3443,1987;Liu等,J.Immunol. 139:3521-3526,1987;Sun等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:214-218,1987;Nishimura等,Cancer Res. 47:999-1005,1987;Wood等,Nature 314:446-449,1985;Shaw等,J.Natl.Cancer Inst. 80:1553-1559,1988;Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851,1984;Neuberger等,Nature 312:604,1984;以及Takeda等,Nature 314:452,1984)。

[0055] 对于双特异性抗体来说,抗体的第一部分可以特异性结合本文中描述的靶(例如CRH、ACTH、CRH受体、ACTH受体或GABA受体),并且抗体的第二部分可以特异性结合在血脑屏障处表达的蛋白处,例如转铁蛋白受体,其激活正常情况下将铁运输到脑中的分子通道。在结合所述蛋白(例如转铁蛋白受体)后,抗体被运输到脑中,在那里它可以作用于例如CRH、ACTH、CRH受体、ACTH受体或GABA受体。抗体对第一靶的亲和性可以高于抗体对第二靶(血脑屏障特异性靶例如转铁蛋白受体)的亲和性,并且抗体对第二靶的亲和性优选足够低,使得抗体在跨过血脑屏障后从血管系统释放。在一个实施方案中,抗体的结合转铁蛋白受体的部分可以与Yu等描述的抗体的转铁蛋白受体结合部分(Science Trans.Med.Vol.3,Issue 84,84ra44,2011)相同或基本上类似。

[0056] 如果需要,可以使用人类合成抗体文库针对目标靶(例如CRH或ACTH受体或在血脑屏障处表达的蛋白)进行筛选和分拣。阳性克隆可以通过ELISA和DNA测序来鉴定,并且可以根据需要将抗体重新格式化成全长IgG。可以使用组合CDR诱变进行亲和成熟。然后可以在体外筛选抗体抑制它们的靶(例如CRH或ACTH受体)的活性或功能的能力,并且可以通过标准结合测定法(例如竞争ELISA)来评估它们的亲和性。亲和性可以通过在例如一个或多个CDR中进行丙氨酸取代来改变。可以对各个半抗体进行纯化和组合,并且可以通过常规手段纯化双特异性抗体。

[0057] 可以使用表达载体离体(例如,可以从例如本文中描述的表达系统纯化本发明的蛋白)或在体内(在例如整个生物体中)生产本发明的蛋白,包括抗体。

[0058] 本文描述的活性药剂可以进行各种不同配制,用于给药于患者;可以将包含一种或多种靶向HPA轴、前额皮质和/或交感神经系统的药剂的组合物以治疗有效剂量给药于患者,以降低成瘾和本文描述的其他病症的风险或严重性。治疗有效剂量是指足以改善成瘾或本文描述的其他病症的至少一种征兆或症状的药剂或药剂组合的量。组合物可以凭借药剂本身的物理组合包含第一和第二药剂,或者药剂可以凭借共享包装来组合(例如,可以将含有第一活性药剂的片剂与含有第二活性药剂的片剂在单一配药器例如泡罩包装或类似的配药装置中组合,任选进行标注以指示组合物应该被给药的每周天数和每天次数)。包装或配药器可以包含例如金属或塑料箔,并可以伴有给药说明书。以这种方式包装的组合物

可以被称为“药包 (kit)”或“双包装剂型”，并配有它们的使用说明书。治疗剂也可以合并并在单一剂型中 (例如片剂或胶囊)。

[0059] 许多可用于本发明情形的药剂以前已出于其他原因用于治疗患者。当配药信息可用时，它可用于帮助确定药剂在本发明描述的组合物中的有效剂量。用于治疗患者成瘾或本文描述的其他指征的剂量可以与以前用于治疗患者的剂量相同。剂量也可以与以前开出的剂量不同。例如，对于本文所述的组合法来说，所需的有效剂量可以低于以前被证明是安全和有效的剂量。

[0060] 必要时，可以通过标准药理学程序在细胞培养物或实验动物中确定毒性和治疗效能。例如，可以使用实验室动物例如啮齿动物和非人类灵长动物来确定LD₅₀ (使50%的群体死亡的剂量) 和ED₅₀ (在50%的群体中治疗有效的剂量)。有毒和治疗效果之间的剂量比是治疗指数，其可以用LD₅₀:ED₅₀的比率来表示。典型情况下，表现出高治疗指数的化合物是优选的。

[0061] 从细胞培养物测定法和动物研究获得的数据可用于配制各种在人类中使用的剂量。这些化合物的剂量优选在包含ED₅₀并且只有很低或没有毒性的循环浓度范围内。取决于使用的剂型和使用的给药途径，剂量可以在该范围内变化。对于在本发明的方法中使用的任何化合物来说，最初可以从细胞培养物测定法估算治疗有效剂量 (例如，被设计用于确定核酸、基于核酸的药剂或蛋白质例如抗体是否抑制 (或刺激) 打算用它抑制 (或刺激) 的配体或受体的表达或活性的测定法)。

[0062] 可以在动物模型中配制药剂，以获得包含在细胞培养物中测定到的IC₅₀ (即获得症状的半最大已知的测试化合物浓度) 的循环血浆浓度范围。这样的信息可用于更准确地确定在人类中的有用剂量 (例如治疗有效剂量)。血浆中的水平可以通过例如高效液相色谱来测量。

[0063] 在药物成瘾的治疗中最大的担忧之一是高的重犯率。这种现象可以在恢复期动物中测试，所述恢复期动物被广泛当作药物服用复发倾向的潜伏期模型，并且恢复动物模型可用于进一步确定并限定本文描述的药剂的有效剂量。例如，可以教会动物自给予药物直至维持稳定的药物摄取，然后进行长期的废止训练或戒绝。一旦满足废止判据或在特定戒绝期后，取特定刺激物恢复对以前与药物灌注的投送相关联的操纵性客体特征的响应的能力作为觅药的度量。这种觅药行为的恢复可以在大鼠和猴中由药物本身的触发性注射 (Stewart, J. Psychiatr. Neurosci. 25:125-136, 2000) 或在大鼠中通过短期暴露于间歇式足部电击 (Shaham 等, Brain Res. Rev. 33:13-33, 2000; Stewart, J. Psychiatr. Neurosci. 25:125-136, 2000) 所引起。急性暴露于自给药的药物 (de Wit, Exp. Clin. Psychopharmacol. 4:5-10, 1996) 和暴露于逆境 (Shiftman和Wills, 《应对与药物滥用》(Coping and Substance Abuse), Academic Press, Orlando, 1985; Lamon和Alonzo, Addict. Behav. 22:195-205, 1997; Brady和Sonne, Ale. Res. Health 23:263-271, 1999; Sinha, Psychopharmacol. 158:343-359, 2001; 以及Sinha等, Psychopharmacol. 142:343-351, 1999) 或仅仅是与逆境相关的意象的呈现 (Sinha等, Psychopharmacol. 158:343-359, 2000), 已被鉴定是在人类中唤起觅药复发的强有力事件。

[0064] 我们首先发现了甲吡酮和奥沙西泮的各自减少可卡因的自给药而不对其他行为产生非特异性削弱效应的剂量。然后将剂量按一半的比例降低，直到我们发现每种药

物的不再影响可卡因自给药或任何其他可观察行为的剂量(即无效剂量)。然后将两种药物的无效剂量组合,降低了可卡因自给药。这表明尽管两种药物通过不同机制发挥它们的作用,但效果是累加的。因此,我们得出结论,将通过不同机制影响HPA轴的药物进行组合,可以对可卡因回报产生累加效果。此外,通过这些药物以当药物单独给药时没有效果的浓度进行组合,我们可以最小化可能与这些化合物相伴的潜在毒副作用(例如使用甲吡酮时血浆皮质醇的过度降低和苯二氮䓬类的滥用倾向性)。因此,本发明的组合物可以包括治疗剂的组合,其中一种或两种治疗剂以低于药剂单独给药时获得效果所需的剂量的剂量水平存在;所述剂量可以是累加的。

[0065] 本发明的组合物中至少一种药剂的剂量可以低于药物目前和典型处方的剂量。例如,当本发明的组合物包含目前用于治疗焦虑症的苯二氮䓬类时,给药于患者用于治疗成瘾、可能与或可能不与成瘾相关的另一种精神障碍或神经变性疾病的化合物的量,可以低于医生为治疗焦虑症所典型开出的剂量。在某些情形中,本发明组合物中两种药剂的剂量将低于那些药剂的传统剂量。

[0066] 本发明组合物中的化学化合物的量可以变化,例如,患者可以以确定的间隔时间接受约1-1000mg给定第一药剂和1-1000mg给定第二药剂。例如,患者可以每若干小时(例如约每2、4、6、8、12或24小时)、每若干天(例如每天一次、每隔天一次、每三天一次)或每若干周(例如每周一次)进行治疗。例如,患者可以每天1-4次接受大约或最多约5-500mg(例如约5、10、15、20、25、35、45、50、100、200、250、300、400、450或500)第一药剂和大约或最多约5-500mg(例如5、10、25、35、45、50、100、200、250、300、400、450或500)第二药剂。这些药剂的量可以相同或不同(例如第一药剂与第二药剂的比例可以为约1:1、1.5:1、2:1、2.5:1、4:1、5:1、10:1、15:1、20:1、25:1或50:1)。例如,组合物可以含有相同量的甲吡酮和奥沙西洋、甲吡醇和奥沙西洋、酮康唑和阿普唑仑、酮康唑和奥沙西洋、甲吡酮和阿普唑仑、甲吡醇和阿普唑仑、蝇蕈醇和CP-154,526或蝇蕈醇和甲吡酮。可选地,本文描述的药剂的这些以及其他组合可以在量上不同,或者可以在每次给药时以上述方式不同。例如,组合物可以包含约250mg甲吡酮和约5mg奥沙西洋,并且患者可以每天1至4次被给药或可以被指导服用这些量。还考虑到了其他剂型。例如,组合物可以包含100-250mg甲吡酮或甲吡醇和5-60(例如10)mg奥沙西洋,并且患者可以每天1至4次(例如约每天一次至每6小时一次)被给药或指导服用这些量。剂量也可以根据按患者体重给药的量表述。因此,第一药剂可以以例如约5-20mg/kg给药,第二药剂可以以例如约0.1-0.5mg/kg给药。

[0067] 按照本发明使用的药物组合物,可以以任何常规方式,使用一种或多种生理可接受的载体或赋形剂来配制。因此,药剂、包括化合物及其生理可接受的盐类和溶剂化物,不论是原样还是如本文中所述被结合以促进跨血脑屏障运输进行给药,都可以配制成用于经口给药或肠胃外给药(例如局部给药)。当药物组合物被配制用于局部给药时,它们可以被配制用于给药到皮肤或另一种可进入的身体组织。例如,组合物可以被配制成在舌下或舌上溶解,或配制成用于吸入(例如作为气溶胶)。

[0068] 对于经口给药来说,药物组合物可以采取例如通过常规手段使用可药用赋形剂制备的片剂或胶囊的形式,所述赋形剂例如粘合剂(例如预明胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素),填充剂(例如乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙),润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石粉或二氧化硅),崩解剂(例如马铃薯淀粉或淀粉羟基乙酸钠),或润湿剂(例如月桂

基硫酸钠)。片剂也可以包含聚乙二醇、甘油和/或明胶。片剂可以通过本技术领域公知的方法来包衣。用于经口给药的液体制剂可以采取例如溶液、糖浆剂或悬液的形式,或者它们可以作为干产品存在,在使用前用水或其他适合的介质构造。这样的液体制剂可以通过常规手段,使用可药用添加剂来制备,所述添加剂例如悬浮剂(例如山梨糖醇糖浆剂、纤维素衍生物或氢化可食用脂肪)、乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯胶)、非水性介质(例如杏仁油、油性酯类、乙醇或分级的植物油),以及防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯或山梨酸)。在需要时,制剂也可以含有缓冲盐类、调味剂、着色剂和甜味剂。

[0069] 无论被配制用于经口还是肠胃外(例如局部)给药,本发明的组合物都可以适合地被配制成提供活性药剂的受控释放。

[0070] 药剂包括化合物(例如小的有机分子)、核酸和基于蛋白质的活性药剂例如抗体及其结合物和组合,可以被配制用于通过注射肠胃外给药(例如通过快速浓注或连续输注,包括从植入型装置输注)。用于注射的剂型可以以单位剂型(例如在安瓿或多剂量容器中)存在,并含有添加的防腐剂。组合物可以采取诸如在油性或水性介质中的悬液、溶液或乳液的形式,并且可以含有配制剂例如助悬剂、稳定剂和/或分散剂。可选地,活性成分可以采取粉末形式,在使用前用适合的介质(例如无菌无热原水)构建。

[0071] 正如提到的,药剂也可以被配制成储库型制剂。这样的长效剂型可以通过植入(例如皮下或肌肉内)或通过肌肉内注射来给药。因此,例如,药剂可以用适合的聚合或疏水性材料(例如作为在可药用油中的乳液)或离子交换树脂来配制,或配制成微溶衍生物例如微溶盐类。

[0072] 用于直接递送至脑的剂型也在本发明的范围内。因此,本文描述的组合物可以配制成用于脑内、脑室内或鞘内注射或用于从药物泵输注到脑的无菌溶液。尽管使用这种给药途径存在明显的风险和不便性,但如果例如患者的症状严重,几乎没有可选方案(或已用尽)并且成功的可能性通过直接给药至脑而增加,那么患者可以与他们的医生协商,选择采取这种方式进行治疗。

[0073] 组合物还可以包含帮助将化合物维持在脑附近的外流抑制剂。一些进入脑的化合物不能达到治疗水平,并且可能通过ABC外流运输机制运输到脑外,其中P-糖蛋白(Pgp)是血脑屏障处的主要外流途径。因此,包含或共同给药Pgp或另一种转运蛋白的抑制剂,可以增加药物在脑中的积累。也可以对血脑屏障进行瞬时操作,以促进本文描述的药剂从系统循环进入脑中。例如,组合物可以包含甘露糖醇或血管缓激肽,或者这些物质可以作为治疗方案的一部分分开给药(例如通过动脉内给药)。也可以使用聚焦的超声波局部破坏屏障,来瞬时打开血脑屏障。

[0074] 本文描述的各种组合物可用于治疗对各种不同物质、包括进食过量时的食物或活动的成瘾;治疗可能在或可能不在原因上或以其他方式与成瘾相关的其他病症或障碍(例如心理病症例如抑郁症、焦虑症和创伤后应激障碍);治疗与绝经或月经周期相关的严重症状;以及治疗神经变性疾病。因此,本发明的特点在于治疗患者的方法,以及本文描述的组合物在治疗中或在治疗本文描述病症的药物的制备中的用途。尽管我们可以提及具体疾病或障碍(例如创伤后应激障碍),但我们使用术语“障碍”来广泛指称本文描述的可以治疗的任何病症(例如成瘾)。

[0075] 本文描述的组合物可用于治疗患有与HPA轴、前额皮质中的异常活性相关的障碍

的患者,或者更广义来说,患有影响脑功能的障碍、特别是与应激相关或与身体的应激诱导的物质例如皮质醇的产生相关的障碍的患者。因此,在第七方面,本发明的特点在于治疗患有成瘾的患者的方法,所述成瘾可以是对物质或活动的成瘾。物质可以是化学物质,并且在患者以不受控制、过量的方式消费食物的情形中也可以是食物。患者可能患有或被诊断为患有对物质的成瘾,所述物质例如酒精/乙醇、化学刺激物、处方(或需处方)止痛药或天然存在的植物来源的药物(例如大麻或烟草中的物质,例如尼古丁)。化学刺激物可以是可卡因、安非他命、甲基安非他命、结晶甲基安非他命盐酸盐、哌醋甲酯或相关刺激物。当特定药物的类似物致瘾时,对那些类似物的成瘾也可以被治疗。药物也可以是巴比妥酸盐(例如 thiamyl(Surital®)、硫喷妥(Pentothal®)、异戊巴比妥(Amyta®)、戊巴比妥(Nembutal®)、司可巴比妥(Seconal®)、吐诺尔(异戊巴比妥/司可巴比妥组合产品)、布他比妥(Fiorina®)、仲丁比妥(Butisol®)、他布比妥(Lotusate®)、阿普比妥(Alurate®)、苯巴比妥(Luminal®)和甲苯比妥(Mebaral®))或阿片类药物(例如海洛因、可待因、氢可酮和相关阿片类药物)。许多处方药物易被滥用,并且对这样的药物(例如处方用于疼痛管理的药物例如复方羟可酮或盐酸羟考酮与对乙酰氨基酚片剂)上瘾的患者可以如本文所述治疗。正如提到过的,当患者以上瘾的方式与食品相关时,所讨论的物质也可以是食品。这样的患者可能患有相关病症例如贪食症或肥胖症。用美沙酮治疗的患者也是使用本文描述的组合物进行治疗的候选者。本发明的组合物可以帮助这样的患者逐步减少并终止使用美沙酮。也可以鉴定并治疗从事上瘾行为的患者。这些患者可能苦于对赌博或性行为的成瘾。

[0076] 成瘾可以通过向患者给药有效量的其中甲吡醇是唯一活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第一方面所描述)来治疗。在那样的情形中,患者可能苦于对可卡因之外的物质的成瘾。组合物可以被配制和/或给药成使血浆皮质醇水平被降低,但是方法不限于此。也可以使用不降低血浆皮质醇水平的剂型和给药方式。在成瘾的治疗中,人们可以给药例如其中甲吡醇是唯一活性药剂并且已被结合到促进跨过血脑屏障运输的蛋白质或其他部分(例如抗体,例如与血脑屏障的血管系统中表达的受体结合的抗体)的组合物。在其他实施方案中,成瘾可以通过向患者给药有效量的含有作为第一活性药剂的甲吡醇以及靶向前额皮质和/或交感神经系统的一种或多种其他活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第二方面所描述)来治疗。由于包含甲吡醇和一种或多种其他活性药剂的组合物可以被配制成使得它们降低或不能降低血浆皮质醇水平,因此使用那些组合物治疗患者的方法将导致皮质醇水平在某些情况下维持,而在其他情况下降低。在其他实施方案中,成瘾可以通过向患者给药有效量的含有靶向HPA的药剂作为唯一活性药剂的组合物来治疗。正如上面在描述本发明的第三方面时所述,这些组合物可以被配制成使得在给药有组合物的患者中血浆皮质醇水平得以维持,并且结果可以通过将活性药剂结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分或增加它对肾上腺之外的组织的可利用性,来促进。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或活性药剂在脑中的保留的药剂。在其他实施方案中,成瘾可以通过向患者给药有效量的含有靶HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的组合物来治疗。根据本发明的第四方面,这些组合物可以配制成使得它们不显著降低血浆皮质醇水平,并且无论血浆皮质醇水平是否受到影响,第一和第二药剂中的任一种或两者可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。通常在成瘾的情况下给药的其他组合物

是上面描述的构成本发明的第五和第六方面的组合物。因此,人们可以给药有效量的其中第一药剂靶向HPA轴并且第二药剂靶向交感神经系统的组合物,或含有靶向HPA轴的第一药剂、靶向前额皮质的第二药剂和靶向交感神经系统的第三药剂的组合物。与其他实施方案相同,靶向HPA轴的药剂或靶向前额皮质的药剂可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。

[0077] 本文描述的用于治疗成瘾的任何方法不仅可以包括本发明组合物的给药,而且可以包括心理治疗或另一种形式的心理支持,以帮助个体应对环境暗示的条件反射。随着戒绝的维持,当那些暗示不再与被滥用的物质成对出现时,它们失去其显著性,并且可以随时减少或中止药物治疗。

[0078] 在第八方面,本发明的特征在于治疗其他障碍的方法,所述障碍包括被当作精神障碍的障碍,并包括涉及HPA轴(或应激轴)和前额皮质的障碍。可以治疗的障碍包括焦虑症,包括但不限于与恐慌障碍相关的焦虑症、社交焦虑障碍、广泛性焦虑症和急性应激障碍。障碍也可以是强迫症(OCD)或创伤后应激障碍(PTSD),无论是否伴有焦虑症。也可以治疗被诊断为患有抑郁症的患者。他们的抑郁症可以、但不必定伴有重度抑郁症、情绪不良、两极型抑郁症、伴有医学病症的抑郁症和伴有物质滥用的抑郁症。可以治疗的另一种障碍是精神分裂症,并且患者可能表现出精神分裂症阴性症状和/或与精神分裂症相关的认知缺损。此外,可以治疗的还包括与绝经和经前综合征相关的严重症状,包括经前烦躁障碍。

[0079] 在上段中描述的障碍可以通过向患者给药有效量的其中甲吡醇是唯一活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第一方面所描述)来治疗。组合物可以被配制和/或给药成使血浆皮质醇水平被降低,但是方法不限于此。也可以使用不降低血浆皮质醇水平的剂型和给药方式。在上面刚刚描述的障碍(例如PTSD)的治疗中,人们可以给药例如其中甲吡醇是唯一活性药剂并且已被结合到促进跨过血脑屏障运输的蛋白质或其他部分(例如抗体,例如与血脑屏障的血管系统中表达的受体结合的抗体)的组合物。在其他实施方案中,上面刚刚描述的障碍可以通过向患者给药有效量的含有作为第一活性药剂的甲吡醇以及靶向前额皮质和/或交感神经系统的一种或多种其他活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第二方面所描述)来治疗。由于包含甲吡醇和一种或多种其他活性药剂的组合物可以被配制成使得它们降低或不能降低血浆皮质醇水平,因此使用那些组合物治疗患者的方法将导致皮质醇水平在某些情况下维持,而在其他情况下降低。在其他实施方案中,上面刚刚描述的障碍可以通过向患者给药有效量的含有靶向HPA的药剂作为唯一活性药剂的组合物来治疗。正如上面在描述本发明的第三方面时所述,这些组合物可以被配制成使得在给药有组合物的患者中血浆皮质醇水平得以维持,并且结果可以通过将活性药剂结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分或增加它对肾上腺之外的组织的可利用性,来促进。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或活性药剂在脑中的保留的药剂。在其他实施方案中,所述障碍可以通过向患者给药有效量的含有靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的组合物来治疗。根据本发明的第四方面,这些组合物可以配制成使得它们不显著降低血浆皮质醇水平,并且无论血浆皮质醇水平是否受到影响,第一和第二药剂中的任一种或两者可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。通常在成瘾

的情况下给药的其他组合物是上面描述的构成本发明的第五和第六方面的组合物。因此，人们可以给药有效量的其中第一药剂靶向HPA轴并且第二药剂靶向交感神经系统的组合物，或含有靶向HPA轴的第一药剂、靶向前额皮质的第二药剂和靶向交感神经系统的第三药剂的组合物。与其他实施方案相同，靶向HPA轴的药剂或靶向前额皮质的药剂可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。

[0080] 在第九方面，本发明的特点在于治疗神经变性疾病包括阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病和肌萎缩性侧索硬化的方法。这些障碍可以通过向患者给药有效量的其中甲吡醇是唯一活性药剂的组合物（其特征如上面本发明的第一方面所描述）来治疗。组合物可以被配制和/或给药成使血浆皮质醇水平被降低，但是方法不限于此。也可以使用不降低血浆皮质醇水平的剂型和给药方式。在神经变性疾病的治疗中，人们可以给药例如其中甲吡醇是唯一活性药剂并且已被结合到促进跨过血脑屏障运输的蛋白质或其他部分（例如抗体，例如与血脑屏障的血管系统中表达的受体结合的抗体）的组合物。在其他实施方案中，神经变性疾病可以通过向患者给药有效量的含有作为第一活性药剂的甲吡醇以及靶向前额皮质和/或交感神经系统的一种或多种其他活性药剂的组合物（其特征如上面本发明的第二方面所描述）来治疗。由于包含甲吡醇和一种或多种其他活性药剂的组合物可以被配制成使得它们降低或不能降低血浆皮质醇水平，因此使用那些组合物治疗患者的方法将导致皮质醇水平在某些情况下维持，而在其他情况下降低。在其他实施方案中，神经变性疾病可以通过向患者给药有效量的含有靶向HPA的药剂作为唯一活性药剂的组合物来治疗。正如上面在描述本发明的第三方面时所述，这些组合物可以被配制成使得在给药有组合物的患者中血浆皮质醇水平得以维持，并且结果可以通过将活性药剂结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分或增加它对肾上腺之外的组织的可利用性，来促进。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或活性药剂在脑中的保留的药剂。在其他实施方案中，成瘾可以通过向患者给药有效量的含有靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的组合物来治疗。根据本发明的第四方面，这些组合物可以配制成使得它们不显著降低血浆皮质醇水平，并且无论血浆皮质醇水平是否受到影响，第一和第二药剂中的任一种或两者可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分。这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。与成瘾或其他精神障碍的治疗不同，本发明的特点在于使用包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂、并且第一和第二药剂都可以不结合到任何其他部分的组合物来治疗神经变性疾病。此外，包含第一和第二药剂的组合物可以不含任何影响跨血脑屏障运输或选择性指导活性物质到达肾上腺之外的任何组织的药剂。通常在神经变性疾病的情况下给药的其他组合物是上面描述的构成本发明的第五和第六方面的组合物。因此，人们可以给药有效量的其中第一药剂靶向HPA轴并且第二药剂靶向交感神经系统的组合物，或含有靶向HPA轴的第一药剂、靶向前额皮质的第二药剂和靶向交感神经系统的第三药剂的组合物。与其他实施方案相同，靶向HPA轴的药剂或靶向前额皮质的药剂可以结合到促进跨血脑屏障运输的蛋白质或其他部分，并且这些组合物也可以简单地包含促进跨血脑屏障运输或提高活性药剂在脑中的保留的药剂。然而，在神经变性疾病的治疗中，本发明扩展到给药包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂、并且两者都可以不结合到任何其他部分的组合物。此外，包含

第一和第二药剂的组合物可以不含任何影响跨血脑屏障运输或选择性指导活性物质到达肾上腺之外的任何组织的药剂。

[0081] 在第十方面,本发明的特点在于治疗引起流体潴留的病症、包括由肾病或机能障碍、肝病(例如肝硬化)和充血性心力衰竭引起的流体潴留的方法。这些障碍可以通过向患者给药有效量的其中甲吡醇是唯一活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第一方面所描述)来治疗。组合物可以被配制和/或给药成使血浆皮质醇水平被降低,但是方法不限于此。也可以使用不降低血浆皮质醇水平的剂型和给药方式。在引起流体潴留的障碍的治疗中,人们可以给药例如其中甲吡醇是唯一活性药剂并且已被结合到促进跨过血脑屏障运输的蛋白质或其他部分(例如抗体,例如与血脑屏障的血管系统中表达的受体结合的抗体)的组合物。在其他实施方案中,引起流体潴留的障碍可以通过向患者给药有效量的含有作为第一活性药剂的甲吡醇以及靶向前额皮质和/或交感神经系统的一种或多种其他活性药剂的组合物(其特征如上面本发明的第二方面所描述)来治疗。由于包含甲吡醇和一种或多种其他活性药剂的组合物可以被配制使得它们降低或不降低血浆皮质醇水平,因此使用那些组合物治疗患者的方法将导致皮质醇水平在某些情况下维持,而在其他情况下降低。

[0082] 本文描述的任何治疗方法可以包括各种不同步骤,其中之一可以包括鉴定需要治疗的患者。医生能够很好地检查并诊断被怀疑患有成瘾和/或本文描述的另一种病症的患者。在可以以可选方式做出的诊断后,医生可以开出治疗有效量的组合物(例如包含靶向HPA轴的第一药剂和靶向前额皮质的第二药剂的药物组合物)。尽管可以治疗任何哺乳动物(例如驯养宠物例如狗或猫),但我们在大多数情况下预期的患者是人类患者。

[0083] 治疗的成功可以通过各种不同方式来评估,包括客观测度(例如药物自给药或其他上瘾活动的频率或严重性的降低)、健康的总体改善(例如血压、肾功能、肝功能或血液计数的改善)和/或主观测度(例如患者报告的对物质或活动的渴望的降低,或更好的安宁感觉(例如焦虑减轻或心境改善))。

具体实施方式

[0084] 实施例1:在大鼠中,在肾上腺切除术后,甲吡酮和奥沙西洋对可卡因自给药的影响

[0085] 我们发现,基本上消除了皮质甾酮(CORT)产生的双侧肾上腺切除术(ADX),废除了静脉内可卡因自给药(SA)的获得并且不影响食物维持的响应。通过向大鼠的饮用水添加CORT,可以部分逆转这种自给药的抑制。此外,我们发现,ADX将正在进行的可卡因自给药减少约25%但是不消除它,表明CORT可能对于可卡因自给药的获得是必需的,但对于其维持不是必需的。在另一个实验中,用阻断CORT合成的甲吡酮(MET)进行预先治疗,引起正在进行的可卡因自给药的剂量依赖性减少。一种苯二氮䓬类药物奥沙西洋(OX),但单独或与MET组合投药时,也剂量依赖性地减少正在进行的可卡因自给药。所述组合在它们自身不产生效果并且对血浆CORT没有影响的剂量下有效。下面描述的研究被设计用于确定在ADX后,MET和OX是否仍减少可卡因自给药。如果减少的话,必定是与CORT的基于肾上腺的产生不同的机制造成了它们的效应。

[0086] 对象:将雄性Wistar大鼠饲养在AALAC批准的动物护理设施中,并维持在它们的自由进食体重的85-90%。从实验过程开始时起,这些大鼠处于颠倒的12小时光照、12小时黑

暗的周期中。

[0087] 导管手术:在硝酸甲基阿托品预处理(10mg/kg ip)和戊巴比妥麻醉(50mg/kg ip)下,将长期内置式颈静脉导管(0.012in i.d.x 0.025in o.d.,硅酮管)植入到每只大鼠中。在即将手术前对动物注射无菌青霉素G普鲁卡因悬液(75,000单位,im),并允许其恢复5-7天。

[0088] 肾上腺切除手术:使用硝酸甲基阿托品预处理(10mg/kg ip)和戊巴比妥(50mg/kg ip)将动物麻醉。通过切口定位肾上腺并将其移除。向动物注射无菌青霉素G普鲁卡因悬液(75,000单位,im),并允许其从手术恢复7天。在ADX后,大鼠接受含有0.9%盐和1.0%蔗糖的饮用水。假手术组中的动物接受相同的手术,只是没有移除肾上腺。它们继续接受自来水饮用。

[0089] 设备:隔音操作条件箱(Med-Associates,Inc.)装备有两个响应杆和直接位于每个杆上方的刺激灯。食物颗粒分发器位于杆之间。每个箱还具有马达驱动的注射泵用于药物投送,以及平衡的转环装置以允许在箱中相对自由的移动。使用IBM兼容的个人计算机和接口系统对过程进行编程,并收集实验数据。

[0090] 可卡因和食物强化的交替程序:在从导管手术恢复后,训练大鼠在多个食物强化和可卡因自给药的交替程序下的响应。允许它们在2小时的行为时段内接近任一种强化物15分钟(料斗),在每个料斗之间有1分钟的暂停时间。每种投送单独的强化物需要完成4次响应(FR4)。每次食物试验后有35秒的暂停时间,每次可卡因输注(0.25mg/kg/输注)在5.6秒内递送,然后有20秒的暂停时间。使用食物维持的响应作为药物和肾上腺切除术的潜在非特异性影响的对照。至少每2周进行盐水代替和食物消除探测,以证实动物能够区分可卡因的存在或不存在。在对两种强化物的响应在FR4时稳定后,使用介质(VEH)、MET 50、OX 5、OX 10、MET 50/OX 5和MET 50/OX 10(mg/kg)对动物进行试验。然后对动物进行肾上腺切除。在恢复1周后,再次允许它们接近可卡因和食物强化。在对两种强化物的响应再一次稳定后,使用同样剂量的MET和OX再次对动物进行试验。

[0091] 激素测量:在行为试验时段结束时通过植入的导管收集血液,用于测量血浆CORT和促肾上腺皮质激素释放激素(ACTH)。将样品保持在冰上,然后在冷冻离心机中离心,收集血浆并冷冻直至进行测定。随后通过放射免疫测定法测定血浆CORT和ACTH(ng/ml)。

[0092] 结果:与肾上腺切除术前的值相比,在肾上腺切除术后甲吡酮和奥沙西洋在阻断可卡因自给药方面同样有效,并可能甚至更有效。肾上腺切除术自身将自给药减少15%,同时来自于甲吡酮和奥沙西洋药剂及其组合的减少使其减少16-74%。肾上腺切除术基本上不改变对食物自给药的影响,尽管在肾上腺切除术后组合显得具有更大影响。在肾上腺切除术前,皮质甾酮不被任何剂量的甲吡酮或奥沙西洋改变,并且在肾上腺切除术后基本上被消除。在肾上腺切除术前,ACTH不被任何剂量的甲吡酮或奥沙西洋改变,但在肾上腺切除术后由于失去来自于肾上腺的负反馈而变得非常高。

[0093] 我们得出结论,甲吡酮和奥沙西洋对可卡因自给药的影响不依赖于血浆皮质甾酮。在肾上腺切除术后,大鼠显得对甲吡酮和奥沙西洋的影响甚至更敏感。这些数据表明,必定存在可能独立于HPA轴的机制参与了这些药物对可卡因自给药的维持的影响。

[0094] 实施例2:在大鼠中甲吡酮和奥沙西洋的组合对甲基安非他命觅药的影响

[0095] 我们以前报道了将低剂量的甲吡酮(皮质甾酮合成抑制剂)与奥沙西洋(苯二氮䓬

类受体激动剂) 进行组合, 在大鼠中减少了静脉内可卡因自给药和已消除的可卡因觅药的暗示诱导的恢复。本研究被设计用于调查甲吡酮与奥沙西洋的组合在大鼠中是否也将阻断与甲基安非他命自给药相关的暗示-反应性。将成年雄性大鼠植入颈静脉导管, 并训练其在每天的2小时时段中自给药甲基安非他命 (0.06mg/kg/输注)。在训练期间, 甲基安非他命投送与音调的出现和室内灯光照明相配合。一旦观察到稳定的自给药基线后, 将大鼠置于强制戒绝条件下, 其中大鼠在它们的饲养笼中保留14天。在第15天的暗示-反应性试验期间, 将大鼠置于操作箱中, 响应仅仅导致出现条件强化物 (即以前与甲基安非他命自给药配合的室内灯光和音调), 没有甲基安非他命被投送。在介质预处理后, 响应-可能发生的条件强化物的出现可靠地维持甲基安非他命觅药 (即对杆进行按压)。使用奥沙西洋 (OX) 与甲吡酮 (MET) 的组合 (5mg/kg奥沙西洋和25mg/kg甲吡酮或10mg/kg奥沙西洋与50mg/kg甲吡酮, ip) 的预处理引起甲基安非他命觅药的剂量相关的减弱。这些数据表明, 奥沙西洋与甲吡酮的组合可用于阻断环境暗示刺激甲基安非他命觅药的能力。

[0096] 对象: 将成年雄性Wistar大鼠 (n=26) 维持在它们的自由进食体重的85至90%, 并允许其自由取用水。每只大鼠被植入长期内置式颈静脉导管, 并使其在手术后恢复最少5天。每周检测导管的开放性。

[0097] 设备: 行为实验在标准的 PLEXIGLAS® 和不锈钢隔音操作条件箱 (Med-Associates, Inc.) 中进行。每个实验箱装备有固定在箱的一个壁上的两根响应杆, 将刺激灯置于每根杆的上方。实验箱也装备有照明灯和音调发生器, 用于产生与每次甲基安非他命输注相配对的“暗示”。

[0098] 自给药训练: 在每日2小时时段内, 在固定比率为4 (FR4) 的强化程序下训练大鼠通过按压一根响应杆 (即“有活性的”杆) 自给药甲基安非他命。在每个时段开始时, 将有活性杆上方的刺激灯点亮以指示甲基安非他命的可用性。最初, 一次压低有活性的杆 (固定比率为1或FR1) 引起静脉内输注甲基安非他命 (在5.6秒内在200 μ l 0.9%肝素化NaCl中投送0.06mg/kg/输注) 并同时出现室内灯光和音调暗示。因此, 暗示变成了条件或刺激强化物。每次输注后有20秒的暂停时间。有活性杆上方的刺激灯在输注和暂停时间内变暗, 并在暂停时间结束后再次点亮。当在有活性杆上的响应的变化连续两天低于20%时, 将响应率从FR1变为FR2。当这种行为判据再一次得到满足时, 将响应要求从FR2增加至FR4。在最少10天后获得在FR4强化程序下的稳定的基线响应 (连续三天变化低于10%)。对无活性杆的相应在任何时候不产生有程序的结果。

[0099] 戒绝: 在FR4程序下的稳定响应的判据得到满足后, 开始强制戒绝。在最后一次自给药时段后, 立即将大鼠置于其饲养笼中, 并在那里连续保持14天不接近甲基安非他命或与药物配对的暗示。

[0100] 暗示-反应性试验: 在第15天, 进行暗示-反应性试验。在试验时段开始之前, 将大鼠用介质或奥沙西洋和甲吡酮的两种药剂组合 (5mg/kg奥沙西洋和25mg/kg甲吡酮或10mg/kg奥沙西洋和50mg/kg甲吡酮, ip) 之一处理30分钟。然后将它们置于实验箱中, 并将有活性杆的刺激灯点亮。记录两个杆上的响应, 但在无活性杆上的响应不产生程序性结果。在有活性杆上响应后, 音调和室内灯光条件暗示出现5.6秒, 并且刺激灯变暗20秒 (与正常自给药期间相同), 然而没有输注甲基安非他命。每只大鼠以交替的介质和5mg/kg奥沙西洋和25mg/kg甲吡酮或介质和10mg/kg奥沙西洋和50mg/kg甲吡酮的程序试验最多4次。

[0101] 血浆收集测定:在三个时间点通过内置的颈静脉导管或剪尾抽取血液样品,所述三个时间点为稳定的FR4自给药响应的最后一个时段之后即刻、强制戒绝的最后一天(第14天)和暗示-反应性试验时段后即刻,以测量血浆皮质甾酮的波动。将皮质甾酮样品离心,收集血浆并立即冷冻在-20℃下。通过放射免疫测定法分析血浆样品,并在 γ 计数器中读数。

[0102] 结果:奥沙西洋与甲吡酮的两种组合显著减少有活性杆响应。在所有三个时间点时,在不同组之间血浆皮质甾酮没有显著差异。FR4是稳定的自给药响应的最后一天,ABST是强制戒绝的最后一天,并且CUE-R是暗示-反应性试验当天。

[0103] 在暗示-反应性试验当天,在有活性杆上的响应次数差异在介质与0x5/Met 25之间($p < 0.05$)和介质与0x10/Met50($p < 0.001$)之间是显著的,但是在0x5/Met25与0x10/Met50之间不显著($p > 0.05$,单因素ANOVA)。在稳定的FR4响应的最后一天,在所有组之间血浆皮质甾酮没有显著差异($p > 0.05$)。在强制戒绝的最后一天,在所有组之间血浆皮质甾酮没有显著差异($p > 0.05$)。在暗示-反应性试验当天,在所有组之间皮质甾酮没有显著差异($p > 0.05$)。

[0104] 基于上面描述的结果,我们得出结论,使用奥沙西洋与甲吡酮的组合(5mg/kg奥沙西洋与25mg/kg甲吡酮或10mg/kg奥沙西洋与50mg/kg甲吡酮,ip)进行的预处理,引起甲基安非他命觅药的剂量依赖性衰减。在整个实验中的任何时间点,相对于介质组皮质甾酮水平没有显著改变。这些数据表明,奥沙西洋与甲吡酮的组合可用于阻断环境暗示刺激甲基安非他命觅药的能力并且不改变血浆皮质甾酮。

[0105] 实施例3:在大鼠中3甲吡酮和奥沙西洋的组合对静脉内尼古丁自给药的影响

[0106] 这里描述的研究被设计用于测试在大鼠中甲吡酮与奥沙西洋的组合对尼古丁自给药的影响。在使用固定比率和渐进比率强化程序两者训练出在1小时自给药时段内静脉内(IV)自给药尼古丁(0.03mg/kg/输注)的大鼠中,试验了甲吡酮(25或50mg/kg)和奥沙西洋(5或10mg/kg)的几种剂量组合。组合给药低剂量的甲吡酮和奥沙西洋,在两种强化程序下的大鼠中减少了静脉内尼古丁自给药。还使用固定比率程序试验了伐仑克林,使用伐仑克林时观察到的药物摄取的减少与使用所测试的最低剂量组合时观察到的相当。本研究的结果表明了甲吡酮与奥沙西洋的组合用于人类戒烟的可行性。

[0107] 已报道, $\alpha 4\beta 2$ 烟酰胺乙酰胆碱受体部分激动剂伐仑克林(Keating和Lyseng-Williamson, *Pharmacoeconomics* 28(3):231-254,2010)与布普品(Cahill等, *Drug Safety* 32(2):119-135,2009;Gonzales等, *JAMA* 296(1):47-55,2006;Jorenby等, *JAMA* 296(1):56-63,2006)或尼古丁替换疗法(Aubin等, *Thorax* 63(8):717-724,2008;Cahill等, *Drug Safety* 32(2):119-135,2009)相比,对戒烟具有更高的效能,尽管1年后的戒绝率仅为14%(Nides等, *Arch. Intern. Med.* 166(15):1561-1568,2006)。这些数据表明,对于开发用于治疗尼古丁依赖性的安全有效的药物疗法,存在着持续的需求。

[0108] 动物:Wistar来源的雄性大鼠(250-300g)购自Harlan Laboratories(Livermore, CA),分两组饲养,并以12h:12h的光照循环维持在控温环境中。在试验之前,在一周的适应期间,动物被提供有自由取用的食物和水,并进行几天的每天触摸,以使它们对触摸应激不敏感。包含在数据分析中的每只大鼠接受所有处理,以便获得药物效应的可靠评估并减少动物间变差的影响。按照现有的NIH指导原则和所有适用的当地、州和联邦法规和指导原则处理、饲养和处死动物。

[0109] 药物处理:大鼠接受甲吡酮(25或50mg/kg, Sigma Aldrich)与奥沙西泮(5或10mg/kg, Sigma Aldrich)的几种剂量组合之一或介质,它们作为在0.9%盐水中含有5% Alkamuls EL-620 (Rhodia)的悬液腹膜内给药。使用1mg/kg (用游离碱表示) 伐仑克林-HCl (Ontario Chemicals)作为阳性对照并皮下给药。将尼古丁酒石酸氢盐(Sigma Aldrich)以0.3mg/mL (用游离碱表示)溶解在等渗盐水中,调整至pH 7.0并稀释,以递送0.03mg/kg/输注。所有测试化合物在尼古丁自给药时段之前30分钟,以1mL/kg的体积给药。在固定比率研究中试验的剂量为50mg/kg甲吡酮:10mg/kg奥沙西泮;50mg/kg甲吡酮:5mg/kg奥沙西泮;25mg/kg甲吡酮:5mg/kg奥沙西泮;以及1mg/kg伐仑克林。在渐进比率实验中测试了最低剂量组合(即25mg/kg甲吡酮:5mg/kg奥沙西泮)。我们选择这些剂量是基于据我们以前在可卡因自给药的大鼠模型中使用这种药物组合的数据(Goeders和uerin, Pharmacol.Biochem.Behav.91(1):181-189,2008)。

[0110] 器具:食物训练和尼古丁自给药在8个标准的Coulbourn™操作条件箱中进行。每个箱被安装在隔音箱中。操作箱装备有固定在箱底上方2cm处的两根杆,并在箱的后壁上正确杆(有活性的杆)上方2cm安装有暗示灯。对于食物训练来说,食物槽位于后壁中间任一杆的左侧/右侧2cm处。静脉内输注通过安装在隔音箱外部的马达驱动的输注泵(Razel),以1秒时间间隔在0.1mL体积内递送。

[0111] 食物训练:如以前所证实的建立杆的按压(Hyttia等, Psychopharmacology (Bed.) 125(3):248-254.1996)。一开始,将大鼠限制于15克的每日食量以使它们维持在它们的自由进食体重的约85%。在食物限制的第二天,训练大鼠在固定比率为1(FR1)的强化程序(即在每次压杆后投送1颗食物粒)并且在每次颗粒投送后具有1秒的暂停时间(TO-1s)下响应,并将响应要求逐渐提高至FR1和TO-20s的强化程序。训练时段每日进行两次,并且每个时段持续30分钟。一旦大鼠在FR1和TO-20s的强化程序下获得稳定的基线响应、其被定义为在3个连续时段内变差性低于20%之后,将它们送回随意饲养,为手术植入颈静脉内导管做准备。

[0112] 手术:将大鼠用异氟烷-氧气混合物(1-3%异氟烷)麻醉,并将长期硅橡胶颈静脉导管插入到外部颈静脉中,并经皮下通往安装在动物背上的聚乙烯组件。导管组件由长度为13-cm的硅橡胶管路(内径0.31mm,外径0.64mm)构成,附接于以直角弯曲的引导套管。套管包埋在牙科粘固粉基质中,并用2×2cm²的耐用网眼织物锚定。将导管从大鼠背部经皮下通往颈静脉,在那里将其插入并用不可吸收的丝质缝合线紧固。在手术成功完成后,给大鼠5天时间恢复,然后开始基线自给药时段。在恢复期间,大鼠保持随意取用食物,并每日冲洗它们的导管线以防止血液凝结和感染。

[0113] 尼古丁自给药:在从手术成功恢复后,将大鼠再一次剥夺食物至它们自由进食体重的85%,并在FR1和TO-20s的强化程序下,每周5天在1小时基线时段内进行自服用尼古丁(0.03mg/kg/输注, IV)的训练,直至获得稳定的响应。稳定响应现在被定义为在两个连续时段内变差性小于20%。在获得对尼古丁的稳定响应后,使用对象内拉丁方设计(LSD)测试甲吡酮与奥沙西泮的各种剂量组合或介质。在一种剂量试验后,允许大鼠重新建立稳定的基线响应,然后进行下一种剂量试验。在使用甲吡酮和奥沙西泮的LSD剂量试验后,将大鼠在基线条件下操作至少5天直至获得稳定的响应,然后试验阳性对照伐仑克林(1mg/kg, 皮下给药)。在伐仑克林试验完成后,将大鼠再次在基线条件下操作至少5天直至获得稳定的响

应。然后使用渐进性比率 (PR) 强化程序试验同样的大鼠, 其中每次尼古丁输注导致获得后续输注所需的压杆次数的渐进性增加。压杆的渐进如下: 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95等, 源自于公式 $((5 \times e^{0.2n}) - 5)$ 并四舍五入至最接近的整数, 其中 n 是比率序列中的位置。对于 PR 试验来说, 在 PR 第 1 天, 将一半大鼠使用甲吡酮和奥沙西洋进行试验, 另一半使用介质进行试验。在 PR 第 1 天后, 将大鼠再次在基线条件 (FR1 和 T0-20) 下以 0.03mg/kg/输注的量操作, 直至再次观察到稳定的响应。然后进行第二 PR 时段, 其中在第一 PR 时段中接受药物治疗的大鼠此时接受介质, 在第一 PR 时段中接受介质的鼠此时接受甲吡酮和奥沙西洋。在每个试验时段之前和之后冲洗导管以确保导管开放, 防止血液凝结并降低感染风险。由于导管故障导致一只大鼠在研究期间被取出; 显示的数据代表使用所有试验药剂完成测试的 8 只大鼠的响应。

[0114] 数据编辑、处理、分析: 从多个操作箱同时在线收集数据。来自于 LSD 尼古丁自给药实验的数据作为尼古丁强化响应的平均累计次数来报告。来自于 PR 研究的结果作为强化响应的平均数和断点来报告。一般来说, 首先对数据执行方差均匀性检验。如果分值不违反方差均匀性假设, 则执行适合的方差分析 (ANOVA)。试验数据使用 StatView 统计学软件包, 在 PC 兼容计算机上进行分析。为了分析所有剂量响应曲线, 执行重复测量 ANOVA。在适合时, 使用成对 t -检验执行追踪分析。

[0115] 结果: 在对照条件 (介质治疗) 下, 在 FR1-T0-20s 强化程序下大鼠在 1 小时试验时段内接受 15.0 ± 1.5 次尼古丁输注。使用甲吡酮与奥沙西洋的组合的治疗以剂量相关性方式减少尼古丁自给药, 其中 25:5mg/kg, 50:5mg/kg 和 50:10mg/kg 的剂量比例分别将尼古丁输注减少至 7.1 ± 1.6 、 5.3 ± 1.3 和 3.1 ± 1.0 次。

[0116] 治疗组的 ANOVA 揭示, 相对于介质, 甲吡酮: 奥沙西洋对尼古丁摄取的影响是显著的 [$F(3, 21) = 16.970, p < 0.0001$]。单个甲吡酮与奥沙西洋剂量组合的追踪分析 (即成对 t -检验) 揭示, 所有剂量组合的结果与使用介质获得的结果显著不同 (甲吡酮: 奥沙西洋, 25:5mg/kg, $p = 0.0091$; 50:5mg/kg, $p = 0.008$; 50:10mg/kg, $p < 0.0001$)。使用每个治疗日内所有大鼠的平均值进行的顺序效应分析, 没有发现显著发现。

[0117] 发现伐仑克林治疗将尼古丁输注从 15.4 ± 1.0 次减少至 7.7 ± 1.2 次。这些数据的 ANOVA 分析揭示出在 1 小时自给药时段期间这种尼古丁输注次数的减少是统计学显著的 [$F(1, 7) = 47.042, p < 0.0003$]。伐仑克林结果与使用甲吡酮: 奥沙西洋观察到的结果的比较, 显示出在所有试验的剂量下, 甲吡酮: 奥沙西洋组合与伐仑克林相比更有效地减少尼古丁自给药。

[0118] 在渐进性比率程序下试验了甲吡酮: 奥沙西洋的最低剂量组合 (25:5mg/kg)。用甲吡酮: 奥沙西洋预处理将尼古丁输注的次数从 6.1 ± 0.5 次减少至 2.8 ± 0.6 。断点从使用介质的 12.6 ± 1.6 次压杆减少至使用甲吡酮: 奥沙西洋的 3.9 ± 0.9 。渐进性比率数据的 ANOVA 揭示, 用 25:5mg/kg 甲吡酮: 奥沙西洋预处理引起尼古丁输注总次数 [$F(1, 7) = 15.997, p < 0.0055$] 和断点 [$F(1, 7) = 19.533, p < 0.0035$] 的显著减少。伐仑克林没有使用渐进比率程序进行试验。

[0119] 已经描述了本发明的许多实施方案。然而应该理解, 可以做出各种不同修改而不背离本发明的精神和范围。因此, 其他实施方案在本发明的范围之内。

[0120] 实施例 4: 甲吡酮与奥沙西洋的组合对可卡因渴望和可卡因服用的影响: 双盲随机

安慰剂对照的试验性研究

[0121] 本研究被设计用于评估在45位可卡因依赖性个体中,皮质醇合成抑制剂甲吡酮和苯二氮䓬类药物奥沙西洋的组合的安全性和效能。在6周的治疗中,对象随机给药500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋的每日总剂量(低剂量)、1500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋的每日总剂量(高剂量)或安慰剂。结果度量是通过在所有到访时对尿液中可卡因代谢物BE的定量测量所确定的可卡因渴望和相关的可卡因用量的减少。在随机对象中,49%完成了研究。甲吡酮与奥沙西洋的组合耐受良好,并倾向于减少可卡因渴望和可卡因使用量,当对基线值进行控制时,其在几个时间点显著减少。

[0122] 我们的研究(政府临床试验号:NCT00567814)评估了在基于社区的环境中,甲吡酮与奥沙西洋的组合是否在可卡因依赖性对象中减少可卡因渴望和使用量。该前瞻性、单中心、随机、安慰剂对照的双盲研究在Shreveport的路易斯安那州立大学卫生科学中心(Louisiana State University Health Sciences Center in Shreveport (LSUHSC-S))的精神药理学研究部(Psychopharmacology Research Unit)进行。对象随机给药500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋的低的每日总剂量、1500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋的高的每日总剂量或安慰剂。6周的治疗期,在每周的第0日和第3日到访(第1至12次访),随后在第7周第0日进行研究结束时的到访(第13次访),在治疗接受后7至14天进行跟踪到访(第14次访)。药物和安慰剂在两个分药剂中供应,每日给药两次。

[0123] 我们使用小型国际神经精神病学访视(Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI, Sheehan等, J. Clin. Psychiatry 59 (Suppl. 20): 22-33; 测验34-57)), 征召了满足《心理障碍诊断和统计手册》(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV))的可卡因依赖性标准的45位对象。根据对象进入研究的次序,将他们随即分配到治疗组中。

[0124] 对象是18至65岁、要求进行可卡因成瘾治疗的男性和女性,能够提供书面知情同意书,并且在14天的筛选期内具有苯甲酰芽子碱(BE)阳性尿检。排除判据包括在初始访视时由精神病医生确定的在可卡因依赖性之外的任何显著的DSM-IV轴I障碍,不满足依赖性判据的其他精神活性物质的滥用以及不需要医学脱毒的酒精依赖性可以接受,只要可卡因是选择的主要药物即可。其他排除判据包括在研究前任何时间或研究期间肝酶>正常值2倍、血清皮质醇<3μg/dL、在筛查时或过去需要长期使用甾醇类进行治疗的肝炎或障碍史、显著异常的ECG、妊娠或同时使用任何干扰本研究药物的药物(例如其他苯二氮䓬类药物)。

[0125] 在6周的治疗期间,指令对象随食物每日两次盲服胶囊,每日总共500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋、1500mg甲吡酮/20mg奥沙西洋(其在第1周使用低剂量开始,并在剩余5周逐步增加至高剂量)或安慰剂(乳糖)。不提供心理支持,以避免混杂效应和分离出单独的药物效应的努力。

[0126] 可卡因渴望使用两种版本的可卡因渴望调查问卷(CCQ)进行评估,所述CCQ是对象评分的自给药调查问卷,其要求对象根据7个点的Likert类型的量表对它们同意每一项的水平进行评级。CCQ项目在对象对使用可卡因的渴望、对使用可卡因的正向结果的期望、对停药或负面情绪症状的解除的期望、使用可卡因的意图以及缺乏对使用可卡因的控制方面评估对象目前的状态(Tiffany等, Drug Alcohol Depend. 34: 19-28, 1993)。CCQ-Now由45个问题构成。CCQ-Brief从CCQ-Now的45个问题中提取出10个问题。在第1次访视和研究结束时

的第13次访视时进行CCQ-Now;在所有其他访视时进行CCQ-Brief。在CCQ-Brief中没有遗漏的数据。对于CCQ-Now来说,有几次通过估算该次访视时可用的问题应答的平均值获得对象的总分值,而不是从分析中略去所述记录。

[0127] 可卡因使用量通过在所有访视时对尿液中可卡因代谢物苯甲酰芽子碱(BE)的定量测量来确定。在所有访视时评估的其他效能度量包括并存药物的使用量,其通过尿液药物筛查(包括使用尼古丁产品的对象中的可铁宁水平)来测量,以及自己报告的可卡因和酒精使用量。在第1、2、3、5、7、9和11次访视,研究结束时的第13次访视和追踪的第14次访视时,执行Hamilton焦虑(HAM-A)和Hamilton抑郁(HAM-D)量表。

[0128] 主要效能变量是从第一次给药(第2次访视)至最后一次给药(第12次访视),使用末次观察结转法(LOCF)得到的合并的高和低剂量组(“合并组”)与安慰剂对象相比在可评估效能数据集中CCQ-Brief的平均变化。主要效能分析是基于重复测量模型,使用治疗、时间和治疗次数作为因子,并使用基线作为协变量。由于研究的探索性质,没有对终点的多重性进行调整。也通过使用上述模型对各个治疗臂与安慰剂臂进行比较,来进行效能分析。

[0129] 用于安全性的主要分析组包括根据随机程序接受至少一剂研究药物的所有对象。不利事件使用《药事管理的标准医学术语集》(Medical Dictionary for Regulatory Activities)(MedDRA 10.0版)进行编码。对每个治疗臂概述了出现治疗紧急事件的对象的数量和百分率。对连续变量计算了治疗组的概括统计量(即n、平均值、标准偏差、中值、最小值和最大值)。将类别变量(n和百分率)以列表形式概述。除了临床重要事件的随机测试之外,没有计划推断性试验。

[0130] 执行了两项事后分析以帮助解释研究结果。首先,分析效能可评估和效能不可评估群体的基线特征,以确定高退出率是否引起患者群体的可检测的偏斜。其次,使用在CCQ-Brief变化中观察到的安慰剂响应和效能可评估数据集的大小进行功效分析,以确定是否在统计上可能获得预先限定的主要终点。

[0131] 总体来说,49%的随机对象完成了研究。大多数中断(72%)是对象失去继续追踪的结果。由不利事件造成的对象丢失描述在下面的安全性部分中。在45个随机对象中,26位对象可用于效能评估。效能可评估数据集包括近似相等数量的低剂量、高剂量和安慰剂组中的对象(分别为9、8和9)。

[0132] 可卡因渴望是本研究主要的预先限定终点。由于对象是基于进入研究的次序而不是任何医学或科学参数进行随机分配,因此各组之间存在基线差异的可能性。在研究结束后的数据分析期间,发现在第1次访视时通过CCQ-Now测量的基线渴望水平,在安慰剂组中(4.13)略高于低剂量(3.55)和高剂量(3.55)组。这些渴望水平与以前研究中的类似群体中基于CCQ-Now结果的渴望水平相当(Tiffany等,Drug Alcohol Depend. 34:19-28,1993)。在第2次访视时再一次观察到了组间差异,此时CCQ-Brief值在安慰剂组(3.5)中也高于低剂量(2.3)和高剂量组(2.4)中。

[0133] 尽管在试验的前几周观察到渴望的非常快的变化,但它们显得不是药物相关的,并可能代表了进入治疗的安慰剂效应。尽管这种效应可以通过使用安慰剂插入而降至最低,但这必将延长试验,并使对象保留更加困难。

[0134] 在第6次访视后,来自于CCQ-Brief的初期给药的平均变化出现了相对于安慰剂来说有利于合并组和高剂量组的趋势。在几个时间点处,这些差异达到了统计学显著性。对于

合并组来说,在第2次诊访和第7至11次诊访之间的所有诊访时达到了与安慰剂相比的统计学显著性(在第3次诊访时 $p<0.01$,并且在第7至11次诊访之间 $p<0.04$,从重复测量模型获得的卡方检验)。对于高剂量组来说,在第3、7、9和11次诊访时达到了与安慰剂相比的统计学显著性(对于第3、7、9和11次诊访来说分别为 $p<0.01$ 、 0.02 、 0.01 和 0.01 ,从重复测量模型获得的卡方检验)。

[0135] 对于合并组来说,与安慰剂组相比,主要效能变量、即从第2次诊访至第12次诊访的CCQ-Brief变化,没有显著差异。这是预计到的结果,因为在这个小型试验性研究中,由于大量患者中断,因此效能可评估数据集没有足够的统计学功效。

[0136] 通过尿液中可卡因代谢物BE的测量而确定的可卡因使用的减少,是本研究中的次要终点。在筛选时尿液样品中可卡因测试为阳性的所有对象被随机指派到治疗组。与渴望测量时相同,在第一次诊访的基线时观察到可卡因使用的组间差异,此时7位安慰剂对象(78%)具有可卡因尿检阳性,与此相比在低剂量组中为5位对象(56%),在高剂量组中为3位对象(38%)。然而,各组在接下来的几次诊访中具有相当的可卡因使用率,表明这些差异可能反映了该群体中可卡因使用的变异性而不是组中内在的不平衡性。

[0137] 在研究结束时的第13次诊访时,在合并组中尿液药物筛查可卡因阳性的对象数量(4位对象;24%)明显低于安慰剂组(7位对象;78%; $p=0.02$,Fisher精确检验)。在第12和13次诊访时,在高剂量组中具有阳性尿样的对象数量明显低于安慰剂组(对于第12和13次诊访来说,分别为 $p=0.02$ 和 0.01 ,Fisher精确检验)。此外,在第8次诊访后的所有诊访时,低剂量组中具有尿样可卡因阳性的对象的百分率低于安慰剂组。在第3-12次诊访期间,每位对象具有尿样可卡因阳性的诊访的平均次数,在高剂量组(3.9; $p<0.05$;秩和检验)和合并组(4.5; $p=0.04$;秩和检验)中与安慰剂组(7.1)相比明显更低。

[0138] 在第2次诊访后,在低剂量和高剂量组中,尿液中的平均BE量趋于显示出与筛查时的值相比始终如一的降低,而在安慰剂组中代谢物的量有时增加。高剂量组中的降低在数值上总是高于安慰剂组,这些差异在第1次诊访和第6次诊访时是统计学显著的($p<0.05$;秩和检验)。

[0139] 在治疗组中,没有观察到HAM-A或HAM-D的统计学显著的差异,尽管在高剂量组中朝向研究结束时出现降低的趋势。在组间,在自己报告的酒精或烟消费量中没有观察到差异,在酒精、尼古丁代谢物或滥用的其他药物的药物筛查结果中也没有观察到差异。然而,在基线时,在各个组中焦虑和抑郁评分低,对象报告的酒精消费率低,并且报告的吸烟率变异性大。因此,在研究期间在组间缺少显著差异,在统计上是无意义的。

[0140] 总的来说,以本临床研究中使用的剂量给药甲吡酮和奥沙西洋耐受良好,严重不利事件和由不利事件造成的中断的比例低。尽管本研究非常小,安全性数据的解释受到对象数量少和中断率高的限制,但没有安全性趋势或意料之外的发现。两位对象由于不利事件中断研究。一位对象由于在第11次诊访时血清皮质醇水平低而中断,尽管该对象没有显示出皮质醇低的征兆或症状;血清皮质醇 $<3\mu\text{g}/\text{dL}$ 是预先限定的中断理由。第二位对象由于在第3次诊访时过敏和恶心而中断。需要提到的是,第二位对象在参与本研究期间继续使用可卡因。所有对象在研究期间报告了至少一次不利事件。在合并组中109次事件中只有6次被认为可能或肯定与研究药物相关。

[0141] 血清皮质醇和ACTH浓度变化是甲吡酮的已知效应。观察到了血清皮质醇降低(高

剂量组与安慰剂组相比)和血清ACTH增加(低剂量和高剂量组与安慰剂组相比)的趋势。8位对象在研究期间的一个时间点处具有低于参比范围下限的血清皮质醇浓度;然而,对同时出现的不利事件的复查没有揭示出与低皮质醇的征兆或症状相符的任何不利事件。这8位对象中的5位完成了研究,一位提前中断但是在最低点后具有正常的皮质醇浓度,两位提前中断并且最后一次可获得的血清皮质醇浓度低(1位对象在第5次访视时,1位对象在研究结束的第13次访视时)。这些对象都失去后续追踪,并且没有返回进行后续要求的访视。

[0142] 由于高的中断率,其中23位对象在完成研究之前中断,这23位对象中的18位失去后续追踪,使本研究中安全性的评估多少有些复杂化。尽管这有时能够引起对总体耐受性和对象可能由于未报告的不利事件而中断的担忧,但没有证据表明在本研究中发生了这些情况。高中断率最可能与研究群体的特征相关。

[0143] 在本项甲吡酮与奥沙西洋的组合在可卡因依赖性对象中的临床效能和安全性的试验性研究中,与安慰剂组相比,在高剂量组中在研究结束时的可卡因使用明显更低,支持了甲吡酮/奥沙西洋组合的潜在效能。高剂量组合也倾向于在研究期间减少渴望,正如通过CCQ-Brief所测量的。两种组合剂量显得耐受良好。这些数据与在可卡因依赖性的动物模型中观察到的结果相一致(Goeders等, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 91:181-189, 2008),并支持对这种药物组合的进一步探索。

[0144] 本研究的预先限定的主要终点是从第2次访视至第12次访视的CCQ-Brief的变化。尽管可卡因使用、例如通过尿液苯甲酰芽子碱证实的自己报告的可卡因使用的测度,典型情况下被选为可卡因依赖性治疗研究中的主要结果测度(Anderson, *Drug Alcohol Depend.* 104:133-139, 2009),但CCQ-Brief似乎是作为主要终点的合理选择,因为所提出的甲吡酮/奥沙西洋组合降低应激相关环境暗示刺激药物使用和复发的能力的作用机制,可能包括渴望作为中间阶段。然而,因为渴望是假设的构想,因此也测量尿液苯甲酰芽子碱作为实际可卡因的测度,以更完全地评估对甲吡酮/奥沙西洋组合的响应。CCQ-Brief数据的事后分析揭示,对此来说,可用于效能评估的对象数量太少而不能成为有意义的终点。给定观察到的药物效果和安慰剂效果,每个组需要15位对象才能获得80%的能力。仅使用每个组8-9位对象完成本研究,在不同组之间显著差异的缺乏是不能提供信息的。与我们的研究目的相符,对特定时间点处总体数据和效果的趋势进行检查,以为药物组合的活性提供见解。

[0145] 尽管样品数量少,但通过几种措施观察到了可卡因使用和渴望的显著减少。对于第7次访视与第11次访视之前的所有访视来说,合并组与安慰剂组相比可卡因渴望显著,而对于高剂量组来说,当对基线评估值进行控制时,与安慰剂相比在第7、9和11次访视时达到统计学显著。同样地,在几个时间点处用甲吡酮/奥沙西洋治疗的具有可卡因阳性尿液的对象数量显著减少。此外,从第2周至第6周,在高剂量和低剂量两个组中,与安慰剂组相比,每位对象的具有尿样可卡因阳性的访视的平均总数显著降低。

[0146] 这些统计学显著的结果是在剂量响应的方向上,其中显著响应主要在高剂量组中获得。在整个数据集中观察到了类似区室,其中随着时间观察到渴望和可卡因使用的减少,以及朝向尿液中BE水平降低的趋势。即使在所述降低在统计学上不显著的时间点处,这些发现也显示,显著性结果是数据总体趋势的一部分。效能数据作为整体支持甲吡酮/奥沙西洋药物组合对可卡因使用和渴望的有意义的效应。

[0147] 在可卡因使用和渴望两者中观察到组间基线差异。与高剂量组对象相比,更多的安慰剂组对象在基线时具有药物筛查可卡因阳性,并且在安慰剂组中,与高剂量组相比,渴望的基线水平也较高。这些基线差异在统计学分析中被发现,并且组间不平衡性不干扰在药物治疗组中可卡因使用和渴望降低的统计学发现。然而,这种差异有可能对高剂量组中观察到的治疗益处有贡献。如果高剂量对象患有较不严重的疾病(较少的渴望和较少的可卡因使用),他们可能对安慰剂效应更敏感,引起来自于药物的可感知的治疗益处。尽管不能完全排除这种可能性,但应该指出,在本研究中没有提供心理社会支持,并且预计安慰剂效应是可忽略的。这个问题只能通过更大型研究中测试甲吡酮/奥沙西洋药物组合才能完全解决,我们相信本研究支持了这种更大型研究。

[0148] 在治疗组之间,在HAM-A或HAM-D中没有观察到统计学显著的差异,尽管在高剂量组中,朝向研究结束时出现了减少的趋势。由于这些焦虑和抑郁测度的低基线分值,在治疗组之间缺乏差异并不令人吃惊。组合治疗对其他药物、特别是酒精和尼古丁使用的影响的分析,也可能受到本研究中使用样式的限制。在所有治疗组中,在整个研究中酒精消费量低(即每天饮酒约1次)。在基线时,与安慰剂组相比,高剂量组每日消费的香烟平均数低得多(即约为安慰剂组的60%),并且在组间存在每日吸烟数的大的变异性。

[0149] 实施例5:在大鼠中甲吡醇对可卡因自给药的影响

[0150] 我们进行了下列实验以探索甲吡醇在动物模型中减少可卡因自给药的可能性。在15分钟交替期的食物强化和可卡因自给药(固定比率为4)的2小时的多重交替程序下训练雄性Wistar大鼠进行响应。在试验之前,将大鼠暴露于多次盐水代替和食物消除探测。在试验当天,在开始行为时段之前30分钟,将大鼠用甲吡醇(25、50、100和150mg/kg, ip.)或介质预处理。对象最初用0.25mg/kg/输注的可卡因、随后用0.125和0.5mg/kg/输注的可卡因进行训练和试验。在所有三种可卡因剂量下,可卡因自给药剂量依赖性地减少。除了在最高甲吡醇剂量下之外,食物维持的响应不受显著影响。这些数据支持下述假设,即甲吡醇在甲吡酮的效应中发挥作用,并表明甲吡醇可用于可卡因成瘾的治疗。